

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**Evaluación de la eficiencia de un reactor anaeróbico de flujo ascendente y
manto de lodos UASB para el tratamiento de aguas residuales – escala
laboratorio**

Jessica López

Tesis de grado presentada como requisito para
la obtención del título de Ingeniería Química

Quito, enero de 2011

Universidad San Francisco de Quito

Colegio Politécnico

HOJA DE APROBACION DE TESIS

**Evaluación de la eficiencia de un reactor anaeróbico de flujo ascendente y
manto de lodos UASB para el tratamiento de aguas residuales – escala
laboratorio**

Jessica López

Valeria Ochoa-Herrera, Ph.D
Directora de la Tesis

Daniela Almeida, Ph.D
Miembro del Comité de Tesis

Marcelo Albuja, M.Sc
Miembro del Comité de Tesis

Fernando Romo, M.Sc.
Decano del Colegio Politécnico

Quito, enero de 2011

© Derechos de autor
Jessica López
2011

Agradecimientos

Quisiera agradecer a mi directora de tesis Valeria Ochoa por toda su paciencia y dedicación en la realización de mi tesis, Daniela Almeida y Marcelo Albuja por ser parte de mi comité de tesis. Los tres me han guiado en mi carrera universitaria y les agradezco por todo lo que me han enseñado a lo largo de estos cinco años. De manera general a todos quienes formaron parte de mi formación universitaria un profundo agradecimiento.

Finalmente, agradezco a mis papas y hermanas por su amor, bondad y apoyo incondicional.

Resumen

La generación de aguas residuales es un producto inevitable de toda actividad humana. Los componentes característicos de estas aguas, elevada concentración de partículas en suspensión, materia orgánica, nutrientes, compuestos antropogénicos y patógenos, son la razón por la cual la descarga de aguas residuales en lagos o corrientes convencionales previo a un tratamiento adecuado afecta gravemente a la salud pública y el medioambiente. Este trabajo de investigación busca establecer un proceso biológico adecuado para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con altas concentraciones de materia orgánica. Mediante experimentos batch se determinó la actividad máxima específica de varios lodos y sedimentos, así estableciendo los parámetros necesarios para la posterior aplicación de uno de estos inóculos microbianos en un proceso continuo. Bioensayos de cultivo enriquecido y degradación de glucosa determinaron la actividad máxima específica de los lodos aeróbicos. Mientras la actividad de los lodos anaeróbicos se estableció mediante un estudio de actividad metanogénica. Los sedimentos acuáticos de la laguna sintética de la USFQ se empaquetó en un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor), a escala de laboratorio, el cual se alimentó con una muestra de agua residual sintética. Por medio del monitoreo periódico del porcentaje de remoción de la demanda química de oxígeno, los sólidos suspendidos y la producción de metano se determinó la eficiencia del reactor UASB a través del tiempo. En 110 días de estudio se estableció una eficiencia del reactor UASB del 48.28% en la remoción de la materia orgánica.

Abstract

All human activity produces wastewater, which is characterized by elevated concentrations of suspended solids, organic matter, nutrients and pathogens. The uncontrolled disposal of these wasters is potentially disastrous to the surrounding environment, ecosystems and the public health of the neighbouring communities. This investigation is based on the need to establish an adequate biological process for the treatment of wastewater with high concentrations of organic matter. The maximum specific activity of various sludge and aquatic sediments were tested by means of batch experiments in order to establish the necessary parameters for the posterior application of the microbial inocula in a continuous process. Enrichment cultures and glucose degradation bioassays established the maximum specific activity of the aerobic sludge, while methanogenic activity bioassays determined the activity of anaerobic sludge. Aquatic sediments from an artificial lagoon situated on the USFQ campus were applied in the UASB (Up-flow anaerobic sludge bed) continuous reactor which was feed with synthetic wastewater. The efficiency of the process was determined through constant monitoring of chemical oxygen demand removal, suspended solids content and methane production. After 110 days of operation the reactor reached efficiencies of 48.28% removal of organic material.

Tabla de contenido

Agradecimientos	iv
Resumen	v
Abstract.....	vi
Lista de figuras	x
Lista de tablas	xiii
Capítulo I.....	1
1.1 Introducción	1
1.2 Marco Teórico.....	3
1.2.1 Agua, liquido vital.....	3
1.2.2 Tratamiento de aguas residuales	7
1.2.3 Tratamientos de aguas residuales en el Ecuador	12
1.2 Referencias Bibliográficas	16
Capítulo II	19
Caracterización de Inóculos Microbianos para el Tratamiento de Aguas Residuales.....	19
2.1 Resumen.....	19
2.2 Introducción	21
2.2.1 Crecimiento bacteriano	25
2.2.2 Fuentes de microorganismos	27

2.3 Materiales y Métodos.....	31
2.3.1. Fuente de Lodos	31
2.3.2. Medio de Cultivo.....	31
2.3.3. Cultivo Enriquecido	32
2.3.4. Actividad máxima específica de consumo de glucosa	33
2.3.5. Actividad máxima específica metanogénica	33
2.3.6. Métodos Analíticos	34
2.3.7. Reactivos	40
2.4 Resultados y Discusión	41
2.4.1 Caracterización físico-químico de inóculos microbianos	41
2.4.2. Actividades metabólicas.....	47
2.4.2.1 Actividades metabólicas bajo condiciones aeróbicas.....	50
2.5 Conclusiones	65
2.6 Referencias Bibliográficas	66
Capítulo III.....	69
Puesta en marcha y estabilización de un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor) escala laboratorio para el tratamiento de aguas residuales domésticas.....	69
3.1 Resumen.....	69
3.3 Materiales y Métodos.....	83

3.3.1. Inóculo microbiano	83
3.3.2. Muestra de agua residual sintética	83
3.3.5. Reactivos	87
3.4 Resultados y Discusión	88
3.5 Conclusiones	105
3.6 Referencias Bibliográficas	106

Lista de figuras

Capítulo I

Figura 1.1: Esquema común de una planta de tratamiento de aguas residuales municipal [14]10

Capítulo II

Figura 2.1: Ciclo de degradación microbiana de la materia orgánica durante el tratamiento biológico del agua residual [5].23

Figura 2.2: Curva de crecimiento bacteriano en un cultivo puro [8].....26

Figura 2.3: Esquema de la medición de metano por el método volumétrico de desplazamiento de la solución de hidróxido de sodio39

Figura 2.4: Curva de calibración para la determinación de la demanda química de oxígeno empleando estándares de KHP con concentración en el rango de 0 a 1000 mg O₂ L⁻¹.45

Figura 2.5: Curva de calibración para la determinación de la glucosa empleando estándares con concentraciones en el rango de 0 a 100 µg-glucosa mL⁻¹.49

Figura 2.6: Curvas de crecimiento microbiano de un cultivo enriquecido de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa en presencia de 10% (v/v) de lodos provenientes de varias fuentes y 2000 mg L⁻¹ de glucosa. Leyenda: (●) Lodos livianos del hidrociclón, (■) Lodos afluente del bioreactor, (▲) Lodos pesados del hidrociclón, (✕) Lodos pesados de descarga. Las barras de error representan las desviaciones estándares de los bioensayos por triplicado.....52

Figura 2.7: Degradación aeróbica de la glucosa con respecto al tiempo en presencia de 5% (v/v) de un cultivo enriquecido con los lodos afluente del bioreactor y 2000 mg•L⁻¹ de glucosa. Leyenda: (◆) control abiótico (glucosa + medio basal mineral) (□) tratamiento (glucosa + medio basal mineral + cultivo enriquecido) Las barras de error representan las desviaciones estándares de los bioensayos por triplicado56

Figura 2.8: Generación de metano utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con 2.5 g DQO-acetato L-1. Leyenda: (Δ) Lodos pesados del hidrociclón de una PTAR, (\bigcirc) Sedimentos de la laguna facultativa, ETAPA en Cuenca, (\times) Lodos pesados de descarga de una PTAR y (\blacktriangle) Sedimentos de la laguna artificial USFQ.....58

Figura 2.9: Generación de metano utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con 2.5 g DQO glucosa L-1. Leyenda: (Δ) Lodos pesados del hidrociclón de una PTAR, (\bigcirc) Sedimentos de la laguna facultativa, ETAPA en Cuenca, (\times) Lodos pesados de descarga de una PTAR, (\blacktriangle) Sedimentos de laguna artificial USFQ..62

Capítulo III

Figura 3.1: Proceso de metabolización de la materia orgánica por microorganismos anaeróbicos. Grupos Bacterianos: 1. Hidrólisis- Enzimas Hidrolíticas 2. Acidogénesis- Bacterias Fermentativas 3. Acetogénesis- Bacterias Acetogénicas Sintróficas 4. Bacterias homoacetogénicas 5. Bacterias metanogénicas [1].74

Figura 3.2: Esquema de reactor UASB a escala de laboratorio, conectado mediante mangueras a una bomba peristáltica que alimenta la muestra de agua residual sintética.....85

Figura 3.3: Porcentaje de remoción de la materia orgánica dentro de reactor UASB en función de la medición de la DQO del afluente y del efluente a través del tiempo. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹.....90

Figura 3.4: pH de afluente y efluente a lo largo del funcionamiento de reactor UASB. Leyenda: (\blacklozenge) Afluente, (\bigcirc) Efluente. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹.95

Figura 3.5: Registro de flujo de alimentación por bomba peristáltica (Peri-Star Pro 4H) a lo largo del funcionamiento de reactor UASB. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹.....97

Figura 3.6: Contenido de sólidos suspendidos totales, volátiles y cenizas en efluente a lo largo del funcionamiento de reactor UASB. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹. (◇) Sólidos suspendidos totales, (●) Sólidos suspendidos volátiles, (■) Cenizas.....100

Figura 3.7: Producción de metano por la biodegradación anaeróbica dentro del reactor UASB. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹. Leyenda: (◆) Afluente, (○) Efluente.....102

Lista de tablas

Capítulo II

Tabla 2.1: Preparación de muestras para determinar la demanda química de oxígeno (DQO)	36
Tabla 2.2: Preparación de estándares de glucosa para la determinación colorimétrica de la misma	37
Tabla 2.3: Sólidos suspendidos totales (SST), volátiles (SSV) y cenizas (ASH) de los inóculos microbianos sólidos caracterizados por el método de crisoles.	42
Tabla 2.4: Sólidos suspendidos totales (SST), volátiles (SSV) y cenizas (ASH) de los inóculos microbianos líquidos caracterizados por el método de filtros.	42
Tabla 2.5: Demanda química de oxígeno en $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ de los diferentes inóculos microbianos evaluados.	47
Tabla 2.6: Actividad máxima específica metanogénica de varios lodos y sedimentos utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con $2.5 \text{ g DQO-acetato L}^{-1}$	59
Tabla 2.7: Actividades máximas específicas metanogénicas de varios lodos y sedimentos anaeróbicos utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con $2.5 \text{ g DQO-glucosa L}^{-1}$	63

Capítulo III

Tabla 3.1: Procesos anaeróbicos de tratamiento de aguas residuales [9]	76
Tabla 3.2: Características físico-químicas y biológicas de los sedimentos de la laguna USFQ.	88

Capítulo I

1.1 Introducción

Las aguas residuales se caracterizan por tener altas concentraciones de materia orgánica, sólidos suspendidos, nutrientes y patógenos. El agua residual es un producto inevitable de toda actividad humana tanto doméstica como industrial que al ser descargada sin un tratamiento previo en cuerpos o fuentes de aguas naturales representa una amenaza grave al ecosistema. Por lo tanto, el desarrollo y la aplicación de procesos de tratamiento de aguas residuales es indispensable para preservar el medio ambiente, cuidar el recurso hídrico y proteger así la salud pública.

Los procesos biológicos constituyen sin lugar a dudas el corazón del tratamiento de aguas residuales. En el presente estudio se evaluó la aplicación de un bioreactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos (UASB, Up flow Anaerobic Sludge Bed Reactor) para el tratamiento biológico de aguas residuales domésticas con concentraciones variantes de materia orgánica. El efecto de la inhibición de sustrato en las actividades metabólicas de las bacterias anaeróbicas y su capacidad de recuperación fueron estudiados en un amplio rango de alimentación de carga orgánica. Varios lodos y sedimentos microbianos fueron evaluados en condiciones batch para establecer el más adecuado para utilizarlo como inóculo microbiano en el bioreactor UASB. Finalmente, la eficiencia de degradación de la materia orgánica y la producción de biogás fueron evaluadas conjuntamente en el bioreactor UASB para establecer la carga orgánica adecuada capaz de ser degradada por los microorganismos anaeróbicos.

Los objetivos específicos de la presente tesis de grado en Ingeniería Química fueron:

- Estandarizar métodos analíticos a emplearse en la caracterización de los inóculos microbianos y en la determinación de la eficiencia del reactor anaeróbico UASB.
- Caracterizar inóculos microbianos en base a sus propiedades físico-químicas y biológicas.
- Diseñar y poner en marcha, estabilizar el reactor UASB y determinar la eficiencia de degradación del mismo con una muestra sintética de aguas residuales domésticas.

1.2 Marco Teórico

1.2.1 Agua, liquido vital

El agua es una sustancia química vital para todas las formas de vida. El agua cubre el 71% de la superficie de la tierra en forma de océanos en un 97% y de agua fresca en un 3% que se encuentra distribuida en glaciares, capas polares, agua superficial: ríos, lagos o lagunas y agua subterránea. Únicamente el 0.01% del agua fresca es accesible para el consumo humano [1]. Adicionalmente, el agua es el mayor componente de los seres vivos. Por ejemplo, el cuerpo humano contiene entre un 60% y 70% de agua, una célula de *Escherichia coli* contiene un 70% de agua, el cuerpo de una planta contiene un 90% de agua y el cuerpo de una medusa adulta contiene entre el 94 y 98% de agua, entre otros [2].

El agua es considerada el disolvente universal y en los sistemas biológicos es una pieza esencial de los procesos metabólicos. Adicionalmente, el agua es un componente central en las reacciones de la fotosíntesis y respiración [3]. Las propiedades únicas y particulares del agua hacen que promueva las reacciones de replicación de los seres vivos siendo de esta manera un elemento indispensable para la vida [4].

El agua es un recurso esencial para el funcionamiento de todo ser viviente, en especial para la sobrevivencia de los humanos, sin embargo debido a su mal uso este recurso se encuentra amenazado y en escasez. El estilo de vida que se lleva en los países desarrollados requiere un elevado consumo de agua por persona y el desarrollo de países del tercer mundo busca un estilo de vida semejante. En el siglo XXI con el crecimiento demográfico el uso del agua aumentó drásticamente, se estima que a nivel mundial cada persona consume en promedio 13 galones de agua para realizar sus actividades cotidianas: beber, cocinar, para su higiene personal, etc. En países desarrollados como Estados Unidos se consume en promedio de 65 a

78 galones de agua por persona. En contraste, en los países del tercer mundo, como África una casa entera utiliza diariamente 12 galones de agua [2].

Las Naciones Unidas estiman que en los próximos 50 años la población mundial aumentará en un 50%, este crecimiento poblacional conjuntamente con la industrialización y la urbanización resultará en un aumento en la demanda de agua fresca, la cual acarreará serios problemas socio-ambientales [5]. Más aún las proyecciones indican que en el año 2025 dos de cada tres personas se verán afectadas por la escasez de agua [1]. Esta crisis mundial de agua afectará directamente a toda la población ya que frenará el progreso económico de países en vías de desarrollo, podría generar conflictos entre naciones buscando abastecerse de este recurso vital y pondría en riesgo la salud y supervivencia de las poblaciones más vulnerables.

Toda aplicación de agua para abastecer las necesidades humanas genera aguas residuales (AR), aguas que han sufrido un deterioro en su calidad original. Se consideran como aguas residuales domésticas los efluentes líquidos provenientes de las viviendas o residencias y edificios comerciales e institucionales. Las aguas residuales municipales son aquellos residuos transportados por el alcantarillado de una ciudad o población y tratados en una planta de tratamiento de agua residual (PTAR) municipal, mientras que las aguas residuales industriales provienen de las descargas de industrias de manufactura y por lo general son tratadas en PTAR de dichas industrias [6]. De manera general, las aguas residuales se caracterizan por contener una alta concentración de material orgánico, sólidos suspendidos, nutrientes y patógenos; sin embargo, cada agua residual es única en sus características y en la magnitud de contaminación. Por lo tanto, el tratamiento y disposición apropiada de las aguas residuales requiere del conocimiento de sus características físicas, químicas y biológicas.

Las descargas de aguas residuales sin un tratamiento previo afectan la calidad de los ecosistemas acuáticos desequilibrándolos y ponen en riesgo la salud pública. La materia orgánica presente en el agua residual produce agotamiento de oxígeno disuelto (OD) de la fuente receptora, generando olores indeseables y contribuyendo al desarrollo de condiciones sépticas. La biodegradación de la materia orgánica requiere de OD para la oxidación microbiana, reduciendo así la cantidad de oxígeno disponible para los organismos acuáticos [7].

Los sólidos suspendidos ($> 1,2 \mu\text{m}$) presentes en el AR conducen al desarrollo de depósitos de lodos, turbiedad en el agua y condiciones anaeróbicas cuando se descargan aguas crudas en el medio acuático. Los sólidos suspendidos pueden absorber la energía solar llevando a temperaturas superficiales más calientes, así reduciendo la transferencia de oxígeno del aire al agua. La disminución de OD afecta tremendamente a toda la vida acuática de la fuente receptora [8]. Adicionalmente las plantas acuáticas pueden sufrir daños mecánicos y de abrasión por el asentamiento de las partículas sólidas, y finalmente los invertebrados más grandes pueden ser afectados por el taponamiento de sus branquias y otras superficies respiratorias [9].

Los nitratos, fosfatos y otros nutrientes presentes en el AR son utilizados por algas y otros organismos acuáticos en sus actividades metabólicas. Sin embargo, una alimentación excesiva y continua de estos nutrientes puede desatar un proceso de eutrofización. La concentración elevada de nutrientes estimula el crecimiento de fitoplancton y algas impidiendo la penetración de la luz solar. Como consecuencia, en las aguas profundas se hace imposible la fotosíntesis, productora de oxígeno libre, y a medida que cae la materia orgánica de la superficie aumenta la actividad metabólica de los descomponedores los cuales consumen

oxígeno. Estas actividades agotan pronto el oxígeno, generando un ambiente anóxico que provoca la muerte de especies aeróbicas lo cual a su vez ocasiona una gran cantidad de biomasa acumulada en el fondo. La acumulación continua de este material sólido conlleva a la formación de pantanos, terreno seco, bosque o pradera [7]. La descarga de aguas residuales con concentraciones elevadas de nutrientes, tales como el nitrógeno, también pueden afectar directamente a los seres humano. El nitrato, formado por la transformación del nitrógeno orgánico, puede ser transformado a nitrosaminas, algunas de las cuales son cancerígenas. Adicionalmente, en los intestinos humanos el nitrato es reducido a nitrito el cual es absorbido por el torrente sanguíneo y causa la methemoglobinemia, un desorden comúnmente conocido como el síndrome del bebe azul [10].

Finalmente, los patógenos que forman parte del agua residual constituyen uno de los riesgos más importantes para la salud pública. Según el WHO (World Health Organization) en la actualidad, más de 1.2 billones de personas no tienen acceso a agua limpia y más de 5 millones de personas mueren cada año a causa de enfermedades infecciosas relacionadas con el consumo de agua contaminada [5]. El programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) anunció en el día mundial del agua que más gente muere por el consumo de agua contaminada que por cualquier forma de violencia [11]. Esto incluye a 2.2 millones de personas que mueren de diarrea atribuida a agua contaminada, y 1.8 millones de niños menores de 5 años que mueren con enfermedades infecciosas acarreadas por el consumo de agua contaminada [11]. En los países en vías de desarrollo, como el Ecuador, el 80% de todas las enfermedades infecciosas son causadas por aguas contaminadas [12]. En Latinoamérica las enfermedades comúnmente contagiadas a través del agua contaminada incluyen el cólera epidémico causado por la bacteria *Vibro Cholerae*, diarrea, vomito y fiebre causado por el

virus *Calici*, diarrea causada por *Escherichia coli* (E. coli) y otras bacterias gastrointestinales [12].

1.2.2 Tratamiento de aguas residuales

La prevención de la polución de los ecosistemas acuáticos por la descarga de aguas residuales es posible si se definen técnicas apropiadas de tratamiento y disposición de estos efluentes. A medida que crece la población también aumenta la necesidad de proveer o renovar los sistemas de tratamiento de aguas residuales que permitan eliminar los riesgos para la salud y minimizar los daños al ambiente [13].

En el planeamiento y formulación de un sistema de tratamiento de agua residual se deben considerar varios aspectos tales como la disponibilidad de los recursos económicos y técnicos, y los criterios ambientales establecidos para las descargas de efluentes. Por lo tanto, el objetivo principal del tratamiento de AR es la remoción de la materia orgánica, los sólidos suspendidos y los patógenos. Posteriormente, se busca mejorar la calidad del agua a descargar, por medio de la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo), sustancias orgánicas refractarias, metales pesados y sustancias inorgánicas disueltas.

La capacidad y la eficiencia del sistema de tratamiento de aguas residuales están definidas por el diseño, la implementación y el funcionamiento del proceso de tratamiento en sí. El diseño e implementación del proceso de tratamiento de AR o la combinación adecuada de ellos dependen de las características del agua cruda, la calidad requerida del efluente, la disponibilidad de espacio, los costos de construcción y los costos de operación. El funcionamiento de estos procesos está directamente influenciado por la cantidad y la concentración de la demanda química de oxígeno (DQO), los sólidos solubles, las variaciones

de pH, elevadas temperaturas, la presencia de grasas y aceites en elevadas concentraciones y de sustancias tóxicas inhibitorias del proceso biológico, entre otros [6]. Los procesos de tratamiento de AR se pueden clasificar en pretratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario y tratamiento terciario. Un pretratamiento busca remover por medios mecánicos los constituyentes que puedan causar dificultades de operación durante el proceso de tratamiento del AR. El tratamiento primario se refiere comúnmente a la remoción parcial de los sólidos suspendidos, la materia orgánica u organismos patógenos por medios físico-químicos. Por lo general, el tratamiento primario remueve alrededor del 60% de los sólidos suspendidos mediante procesos de sedimentación. El tratamiento secundario convencional se usa principalmente para remover la materia orgánica soluble y sólidos suspendidos, e incluye los procesos biológicos de tratamiento que constituyen el corazón del tratamiento de AR. Finalmente, el tratamiento terciario o avanzado remueve los nutrientes para mejorar la calidad del efluente secundario con el fin de adecuar el agua para su reúso [13].

En la Figura 1.1 se presenta un esquema típico de una planta de tratamiento de agua residual (PTAR) municipal en Estados Unidos que incluye el pretratamiento, tratamiento primario, secundario y terciario. Brevemente, el pretratamiento consiste en la remoción del ácido sulfhídrico gaseoso. A continuación se encuentra el clarificador primario, un tratamiento primario, que permite remover los sólidos suspendidos por acción de la gravedad. Posteriormente se aplica un tratamiento secundario, un tratamiento biológico para remover la materia orgánica del afluente. En el reactor aeróbico o lodos activados se provee el oxígeno requerido para que las bacterias aeróbicas degraden la materia orgánica. El clarificador secundario remueve la biomasa producida durante la degradación bacteriana aeróbica y el efluente del clarificador pasa a un tratamiento terciario en el cual se realiza un proceso de

nitrificación y desnitrificación para remover el exceso de nutrientes. Los lodos se separan en cada proceso por medio de un clarificador y se unen al resto de los sólidos producidos en todos los procesos de la PTAR. Los desechos sólidos se tratan en un reactor anaeróbico, un biodigestor en el que las bacterias anaeróbicas degradan la materia orgánica y producen biogás como producto final de la degradación del agua residual [14].

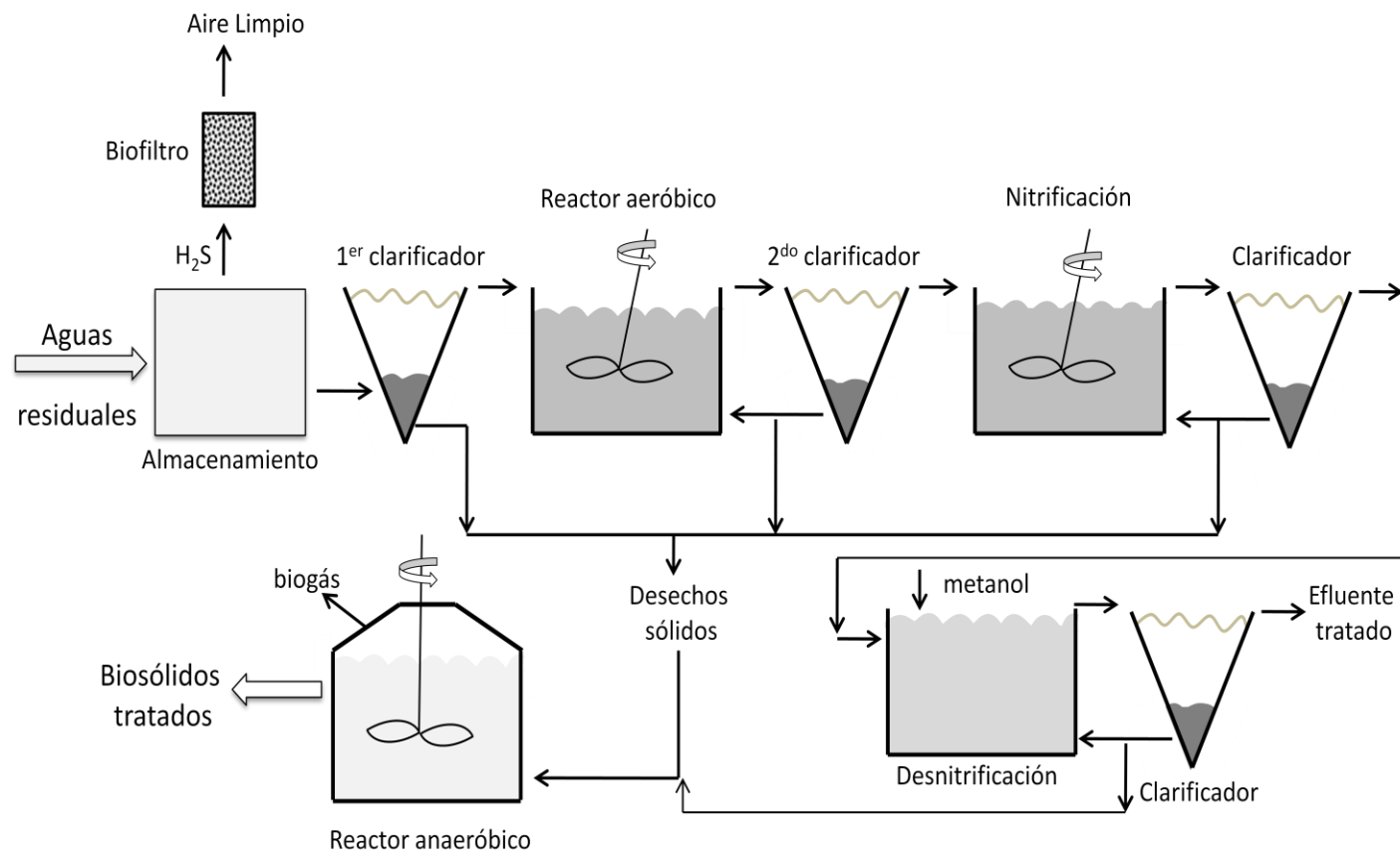


Figura 1.1: Esquema común de una planta de tratamiento de aguas residuales municipal [14]

El objetivo primordial del tratamiento secundario o tratamiento biológico de las AR es la estabilización de la materia orgánica mediante la acción catalizadora de los microorganismos bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas. Durante la descomposición aeróbica de la materia orgánica esta se oxida en presencia de oxígeno molecular para obtener la energía necesaria para la síntesis de tejido celular nuevo y sus actividades metabólicas. La reacción es muy eficiente porque libera grandes cantidades de energía, la cual se almacena preferiblemente en la biomasa sintetizada y los residuos formados son compuestos de bajo contenido energético [13].

Por lo contrario, la descomposición anaeróbica es un proceso en ausencia de oxígeno. La digestión de materia orgánica anaeróbica es menos eficiente que la aeróbica en cuanto a la producción de energía. La mayoría de la energía liberada en el metabolismo anaeróbico permanece en los productos finales orgánicos reducidos en forma de biogás, por consecuencia se genera una cantidad de biomasa mucho menor que la producida en el proceso aeróbico. La materia orgánica se oxida generando biogás que está compuesto principalmente por metano y CO_2 . El metano es un hidrocarburo que tiene un calor de combustión de 803 kJ/mol [15] y constituye una fuente de energía alternativa. Esta es una de las ventajas más importantes del proceso anaeróbico, al producir un producto final de alto contenido energético se promueve una baja tasa de síntesis de biomasa, minimizando así los problemas de disposición de lodos.

Existen varios tipos de reactores anaeróbicos empleados para el tratamiento de AR a nivel mundial, uno de los más interesantes es el bioreactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos (Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor) por ser altamente eficiente. Este reactor cuenta con manto de lodos asentado sobre el fondo del reactor por el cual atraviesa la

alimentación del agua residual. El diseño del UASB cuenta con un separador de fases en la cual se separa la biomasa en suspensión del agua tratada y de biogás formado [16].

1.2.3 Tratamientos de aguas residuales en el Ecuador

El Ecuador se ubica en un nivel intermedio con relación al resto de países latinoamericanos en cuanto a los servicios de agua potable y alcantarillado. En el año 1998 se tenía una cobertura del 36.8% de agua potable y 41.8% de alcantarillado [17]. En el año 2001 se observó un mejoramiento, el 78.1% de la población contaba con servicios de agua potable y el 48% con alcantarillado [18]. Sin embargo, existe mucha inequidad entre las áreas urbanas y rurales. En los últimos años la cobertura urbana ha incrementado, mientras que la cobertura rural ha disminuido. La mayoría de los sistemas públicos de agua potable dependen del redireccionamiento de aguas procedentes de manantiales de las partes más altas de las montañas hacia las comunidades. Si estas aguas cuentan con algún tipo de tratamiento, que es poco frecuente, se trata únicamente de desinfección. La única ciudad que cuenta con un sistema de tratamiento completo de sus aguas residuales es Cuenca. De los 214 cantones del país, apenas 19 tienen algún tipo de tratamiento, mayormente lagunas de oxidación [17]. De acuerdo a Galárraga-Sanchez en su informe nacional sobre la gestión del agua en el Ecuador, los recursos hídricos del país más contaminados se encuentran en el Golfo de Guayaquil: los ríos Daule y Babahoyo; en la vertiente Amazónica: las cuencas de los ríos Napo, Pastaza y Zamora; en la región interandina: las áreas de influencia de las ciudades de Quito, Cuenca, Ambato, Loja e Ibarra, tales como el río Machangara y el río Cutuchi. El problema empeora por el aumento de los volúmenes de desechos líquidos y sólidos producto del crecimiento poblacional y la actividad industrial. La vulnerabilidad hacia las enfermedades transmitidas

por el agua se ha manifestado principalmente durante los brotes del cólera. En el año 1998, durante el fenómeno de “El Niño” hubo un brote masivo de cólera en el Ecuador. Se reportaron 3755 casos en 17 de las 21 provincias del país. 37 de los pacientes fallecieron, resultando en una tasa de letalidad del 0.97% [19]. Las medidas preventivas empleadas por las autoridades del país contribuyeron a reducir el impacto de esta epidemia de cólera en el Ecuador. Posterior a este caso los brotes de esta enfermedad disminuyen significativamente en el país. Sin embargo en diciembre del 2003 en la provincia de Zamora Chinchipe se detectaron 25 casos de cólera, resultando en una muerte. Gracias a la respuesta inmediata de las autoridades locales se logró establecer el control de la situación [20].

El agua contaminada es la causa de varias enfermedades en el Ecuador, tales como el cólera. Por esta razón se realizó desde el año 1998 hasta el 2003 un estudio en el cual se monitoreó la calidad de agua en las regiones del cantón de Cotacachi [12]. Los resultados alarmantes mostraron que en los sitios de mayor contaminación de materia orgánica, la población usaba el agua para sus necesidades domésticas como lavado de ropa y preparación de alimentos. En estas aguas se determinó la presencia de colonias bacterianas coliformes y de *E. coli* indicadores de contaminación con heces fecales humanas o de animales. En las aguas analizadas de Cotacachi se encontraron concentraciones muy elevadas de bacterias coliformes incluso en algunas aguas consideradas potables. El 71% de las viviendas muestreadas dieron resultados positivos para contaminación de bacterias coliformes y el 30% mostró la presencia de *E. coli* [12].

Las ciudades de Quito y Cuenca brindan los mejores servicios de agua potable y gestión ambiental del recurso hídrico [21]. La Empresa Pública Municipal de Telecomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento (ETAPA) en Cuenca cuenta con una PTAR que

trata las aguas residuales generadas en el área metropolitana de la ciudad de Cuenca que anteriormente eran descargadas en los ríos tales como el río Tomebamba. El efluente, agua ya libre de contaminación, se descarga a los ríos y una parte se reutiliza en actividades tales como riego, cultivo de peces, recreación y generación eléctrica. La PTAR cuenta con un tratamiento preliminar y lagunas de estabilización [22]. La ciudad de Quito recién está estudiando las alternativas a nivel de factibilidad para la implementación de una PTAR con el objetivo de controlar la contaminación de los ríos de la ciudad [23].

El gobierno ecuatoriano busca proteger la calidad del recurso hídrico y preservar la integridad de las personas, de los ecosistemas y del ambiente en general por medio de la norma de calidad ambiental y de descargas de efluentes hídricas. La norma técnica ambiental establece los límites permisibles de más de 40 parámetros de control para la disposición de efluentes hídricos en cuerpos de agua dulce, salada y/o en sistemas de alcantarillado. Además postula los criterios de calidad de las aguas para sus distintos usos y los métodos para determinar la presencia de contaminantes en el agua [24].

Mediante estas normas y regulaciones las autoridades gubernamentales buscan controlar la calidad del recurso hídrico en el Ecuador, debido a los efectos negativos que la descarga descontrolada de aguas residuales presenta para el medioambiente y la salud pública. Ya que el agua residual proviene de toda actividad humana es muy importante el desarrollo de métodos eficientes para el tratamiento de estas. El Ecuador es un país en vías de desarrollo y esto se ve reflejado en las técnicas aplicadas para el tratamiento de aguas residuales. En el Ecuador no existe documentación sobre la aplicación de tratamientos anaeróbicos de aguas residuales por lo cual se realizó el presente estudio. El tratamiento anaeróbico es uno de los tratamientos de aguas residuales más aplicado a nivel mundial por la eficiencia de degradación

de la materia orgánica y adicionalmente la generación de biogás. Durante el tratamiento anaeróbico se produce poca cantidad de lodos, económicamente es más rentable que el proceso de degradación aeróbica ya que no se requiere oxigenar el sistema y finalmente se genera biogás, un producto con elevado valor energético.

En la presente investigación se evaluó la aplicación de un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos (UASB) para la protección del recurso hídrico como un proceso alternativo de tratamiento de aguas residuales que cumpla con las necesidades del país.

1.2 Referencias Bibliográficas

1. Howard, B., *The World's Water Crisis*. The Environmental Magazine. Vol. 14. 2003. 32-34.
2. Nothwehr, D., *Water for Life*. New Theology Review. Vol. 23. 2010. 5-15.
3. Hao, X.-D., et al., *Microbiological Endogenous Processes in Biological Wastewater Treatment Systems*. Environmental Science and Technology. Vol. 40. 2010. 239-265.
4. Chaplin, M., *Do we underestimate the importance of water in cell biology?* Nature Reviews Molecular Cell Biology. Vol. 7. 2006. 861-866.
5. Cain, N. and P. Gleick, *The global water crisis*. Issues in Science & Technology. Vol. 21. 2005. 79-81.
6. Romero-Rojas, J.A., *Tratamiento de aguas residuales: teoría y principios de diseño*, ed. E.E.C.d. Ingeniería. 1999, Santafé de Bogotá.
7. Figueruelo, J.E. and M.M. Dávila, *Química física del ambiente y de los procesos medioambientales*, ed. E. Reverte. 2004, Barcelona.
8. Willis, D., *Measuring Economic Benefits of Water Pollution Abatement in an Irrigated River Basin*. 1993: DIANE Publishing.

9. Goel, P., *Water Pollution Causes, Effects and Control*. 2006: New Age International Publishers.
10. Udeh, P.J., *A Guide to Healthy Drinking Water*. 2004, Lincon: iUniverse.
11. Pflanz, M., *World Water Day: Dirty water kills more people than violence, says UN*. The Christian Science Monitor. 2010, Lamu, Kenya.
12. Rhoades, R.E., *Desarrollo con identidad: comunidad, cultura y sustentabilidad en los Andes*. 2006, Quito: Editorial Abya Yala.
13. Qasim, S.R., *Wastewater Treatment Plants: Planning, design and operation*. 2000, Boca Raton: CRC Press
14. Ochoa-Herrera, V., et al., *Toxicity of fluoride to microorganisms in biological wastewater treatment systems*. Water Research. Vol. 43. 2008. 3177-3186.
15. Lide, D.R., *Handbook of chemistry and physics*. 2004, Boca Raton: CRC Press.
16. Lettinga, G., et al., *Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment*. Biotechnology and Bioengineering. Vol. 22. 1980. 699-734.
17. Galárraga-Sánchez, R.H., *Informe Nacional Sobre la Gestión del Agua en el Ecuador*. 2000, Quito.

18. PAHO, *Basic Health Indicator Data Base* 2003: WHO.
19. Gabastou, J.-M., et al., *Características de la epidemia de cólera de 1998 en Ecuador, durante el fenómeno de "El Niño"* Revista Panamamericana de Salud Pública. Vol. 12. 2002.
20. WHO, *Emerging and Reemerging Infectious Diseases, Region of the Americas*. EID Weekly Updates. Vol. 2. 2004.
21. Cadena, R.R.d.l., *Inventario de la Situación Actual de las Aguas Residuales Domésticas en Ecuador*. 2003: Sistemas Integrados de Tratamiento y Uso de Aguas Residuales en América Latina: Realidad y Potencial.
22. Dominguez, J., *Municipio y gestión local participativa en zonas de Montaña*, ed. I.P. Center. 2009, Quito: CONDESAN.
23. *Programa para la descontaminación de los ríos de Quito*. 2010, Quito: Empresa Metropolitana de Agua Potable y Alcantarillado de Quito - EMAAP-Q
24. *Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria - TULAS*. República del Ecuador. Vol. Libro VI Anexo 1. 2000.

Capítulo II

Caracterización de Inóculos Microbianos para el Tratamiento de Aguas Residuales

2.1 Resumen

En América Latina las descargas continuas de aguas residuales provenientes de las actividades domésticas e industriales a los cuerpos y fuentes de agua constituyen uno de los problemas actuales más serios que afecta severamente a la salud pública y al medio ambiente. El desarrollo de sistemas de tratamiento de dichos efluentes es de gran importancia para afrontar estos problemas. El tratamiento biológico de las aguas constituye en la actualidad uno de los métodos más importantes en el tratamiento de aguas residuales. En este trabajo de investigación se caracterizaron seis inóculos microbianos para el tratamiento biológico de aguas residuales en base a sus propiedades físico-químicas y biológicas. Dentro de las propiedades físico-químicas se evaluó el porcentaje de sólidos suspendidos totales (SST), volátiles (SSV) y la demanda química de oxígeno (DQO), mientras que en las propiedades biológicas se evaluó las actividades metabólicas de dichos inóculos. El porcentaje de los SSV con respecto a los SST varió entre 60 – 80% para lodos obtenidos de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la ciudad de Quito, 57 y 31% para sedimentos provenientes de lagunas artificiales y facultativas, respectivamente. El inóculo microbiano

con la mayor concentración de demanda química de oxígeno (DQO) fue el lodo de la PTAR de la ciudad de Quito con una concentración de $2020.22 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Las actividades metabólicas de los diferentes inóculos se determinaron bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas en bioensayos batch. En los bioensayos aeróbicos se empleó la glucosa (2000 mg L^{-1}) como sustrato en presencia de 10% (v/v) de un cultivo enriquecido, mientras que bajo condiciones anaeróbicas los sustratos evaluados fueron acetato y glucosa (2.5 g DQO L^{-1}) con 20% (v/v) de inóculo microbiano. La mayor eficiencia de degradación bajo condiciones aeróbicas fue alcanzada empleando lodos activados provenientes de una PTAR de la ciudad de Quito con una actividad máxima específica de consumo de glucosa de $180.73 \text{ } \mu\text{g glucosa mL}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Mientras que bajo condiciones anaeróbicas, los sedimentos de una laguna artificial registraron la mayor eficiencia de producción de metano con una actividad máxima específica metanogénica de $1.2 \text{ g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

2.2 Introducción

Las aguas residuales son los efluentes provenientes de las actividades domésticas, industriales y comerciales que se caracterizan por su elevada concentración de partículas en suspensión, materia orgánica, nutrientes, compuestos antropogénicos y patógenos [1]. En América Latina y particularmente en el Ecuador el 95% de las aguas residuales domésticas e industriales son descargadas en lagos, ríos o corrientes convencionales previo a un tratamiento adecuado afectando gravemente a la salud pública y al medioambiente [2]. En la actualidad millones de personas mueren por la ingestión de estas aguas no tratadas y el problema seguirá engraveciéndose por el crecimiento continuo de la población, de igual manera el ecosistema se ve altamente afectado [3].

El tratamiento secundario o biológico constituye el corazón del tratamiento de aguas residuales, por lo tanto su aplicación es muy amplia. Este tratamiento se basa en la utilización de inóculos microbianos para la estabilización del agua residual. Los lodos provenientes de plantas de tratamientos de aguas residuales (PTAR) y los sedimentos acuáticos han demostrado ser muy buenas fuentes de agentes biológicos principalmente bacterias. Por lo tanto, una caracterización físico-química y biológica de los inóculos microbianos es esencial para el diseño adecuado de un sistema biológico de tratamiento de aguas residuales. Las bacterias son procariotas, sin membrana nuclear y típicamente unicelulares que se caracterizan por su capacidad de sintetizar sus propios constituyentes a partir de nutrientes que toman del medio externo, en este caso el agua residual rica en materia orgánica en suspensión [4]. Los microorganismos involucrados en el tratamiento del agua residual se denominan quimioheterótrofos ya que obtienen el carbono celular y la energía mediante la fijación y oxidación

de sustancias orgánicas biodegradables, coloidales o disueltas presentes en el agua residual. Durante el tratamiento biológico del agua residual, el crecimiento óptimo de las bacterias involucradas en dicho proceso de degradación ocurre generalmente a valores de pH entre 6.5 y 7.5 y por lo general no toleran valores de pH mayores a 9.5 o inferiores a 4.0. La temperatura también es un factor que afecta de manera importante la actividad bacteriana, siendo la temperatura óptima de crecimiento 30°C-45°C, es decir las bacterias mesófilas están involucradas en el tratamiento del agua residual [5].

El sistema de tratamiento biológico del agua residual está compuesto por un reactor o sistema de reactores. El afluente ingresa al reactor de forma continua, semi-continua o en lotes, en este reactor se encuentra el inóculo microbiano el mismo que transforma la materia orgánica presente en el agua residual en productos simples. Los productos generados son compuestos acuosos o compuestos volátiles que abandonan el sistema ya sea junto con la biomasa en suspensión o son eliminados hacia la atmósfera [5]. La biodigestión permite procesar los nutrientes necesarios que dan lugar al crecimiento microbiano y eventualmente a la formación de flocs, que son estructuras coloniales de microorganismos formados por bacterias con la habilidad de pegarse a partículas no biológicas y entre sí [6]. La figura 2.1 presenta un esquema ilustrativo del proceso de degradación biológica de la materia orgánica durante el tratamiento del agua residual.

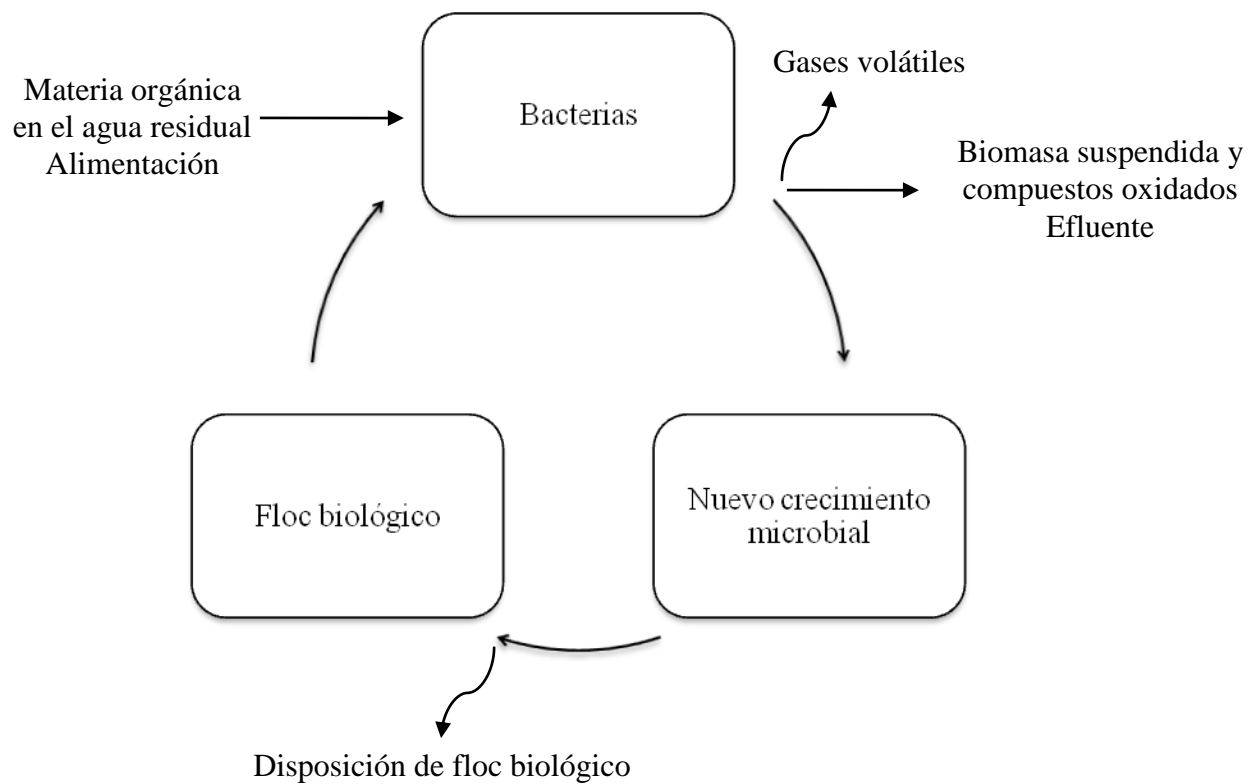


Figura 2.1: Ciclo de degradación microbiana de la materia orgánica durante el tratamiento biológico del agua residual [5].

La metabolización de la materia orgánica presente en el agua residual se da por medio de una reacción de reducción-oxidación (Red-Ox). Las reacciones de Red-Ox involucran la transferencia de electrones. Según el receptor de electrones que participa en la reacción se puede dividir la respiración celular en dos tipos, aeróbica y anaeróbica. En la primera se utiliza oxígeno, O_2 , como aceptor de electrones. Al contrario, en una respiración anaeróbica no interviene el oxígeno, sino se emplean otros aceptores finales de electrones [4].

La reacción Red-Ox que se da en la respiración aeróbica involucra la transferencia de electrones desde la materia orgánica hacia el receptor de electrones, oxígeno, O_2 . Los productos finales de esta reacción son el dióxido de carbono y el H_2O . Durante la transferencia de electrones estos van liberando energía para sintetizar enlaces altamente energéticos en forma de trifosfato de adenosina (Adenosine tri-phosphate, ATP). Siendo el resultado energético neto de la respiración aeróbica de una molécula de glucosa igual a 38 ATP [4].

La respiración aeróbica es muy eficiente por la liberación de grandes cantidades de energía, la misma que es almacenada por lo general en la biomasa sintetizada [5]. Por lo contrario, una descomposición de la materia orgánica en ausencia de oxígeno es menos eficiente en términos energéticos. Durante la respiración anaeróbica de una molécula de glucosa se da la glucólisis seguida de una fermentación que requiere de energía, el balance energético neto es de 2 moléculas ATP. Este fenómeno se debe a que la mayoría de la energía liberada en el catabolismo anaeróbico permanece en los productos finales orgánicos reducidos tales como el metano. Ventajosamente, por esta razón se genera una cantidad de biomasa mucho menor que la producida en el proceso aeróbico [4].

2.2.1 Crecimiento bacteriano

El crecimiento microbiano ocurre durante la degradación de la materia orgánica mediante la fisión binaria celular, una subdivisión en dos células descendientes. El tiempo de duplicación de *Escherichia coli* fue estudiado por Nguyen *et al.* en base a la concentración inicial de la bacteria. En condiciones optimas el tiempo de duplicación del *E.coli* es de 18 min [7].

La figura 2.3 presenta una curva típica de crecimiento bacteriano a través del tiempo de acuerdo a la teoría de Monod [8]. En esta curva se pueden observar cuatro fases: fase de adaptación, fase de crecimiento exponencial, fase estacionaria y fase de mortalidad. En la fase de adaptación la población bacteriana se aclimata al nuevo ambiente con una concentración elevada de nutrientes. El número de células no se incrementa apreciablemente ya que las células deben sintetizar enzimas apropiadas para la digestión de los nuevos nutrientes. La segunda fase de crecimiento se denomina fase exponencial. Esta fase se caracteriza por tener la máxima tasa de crecimiento específico, es decir la máxima conversión del sustrato [9].

Posteriormente se encuentra la fase estacionaria resultado del agotamiento de algún nutriente o del sustrato. Las células reducen drásticamente su actividad metabólica y comienzan a utilizar como fuente energética aquellas proteínas celulares no esenciales. En esta última fase de crecimiento se tiene una densidad máxima de población y el número de células nuevas es aproximadamente igual al número de células que mueren. Finalmente, se encuentra la fase de mortalidad y lisis celular [10].

.

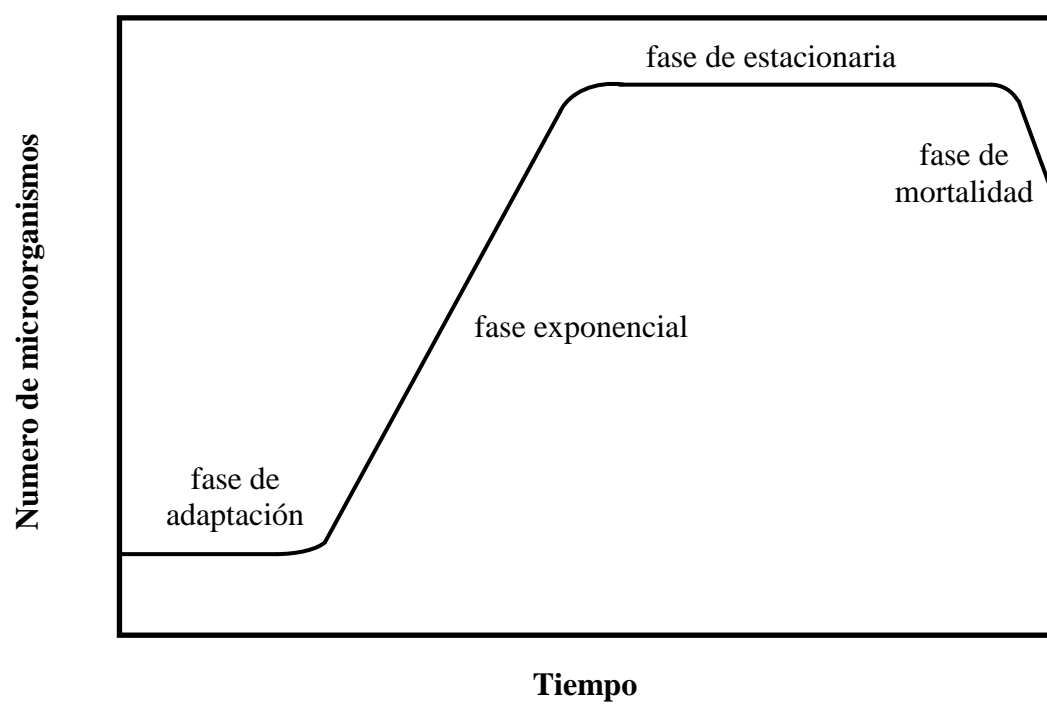


Figura 2.2: Curva de crecimiento bacteriano en un cultivo puro [8].

Bajo condiciones óptimas de crecimiento, por lo general en bioensayos en el laboratorio, las bacterias pueden crecer de manera mucho más eficiente que en el medio natural. Grabai y Sjorgren estudiaron los efectos de las condiciones ambientales sobre la sobrevivencia microbiana a través del tiempo en bioensayos batch en laboratorio y crecimiento in situ [11]. En dicho estudio con *E. coli* se encontró que la tasa de mortalidad de estos microorganismos bajo condiciones óptimas de laboratorio comparada con las condiciones in situ fue de 620 h y 124 h, respectivamente, es decir los microorganismos fueron 5 veces más resistentes en el laboratorio que en el medio natural.

2.2.2 Fuentes de microorganismos

Las fuentes de microorganismos o inóculos microbianos para el tratamiento biológico de aguas residuales son los lodos provenientes de tratamientos biológicos ya existentes tales como plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) y sedimentos obtenidos de ecosistemas acuáticos. Los lodos derivados de un tratamiento primario de agua residual contienen todos los posibles patógenos humanos o animales presentes en el agua residual, mientras los lodos provenientes de un tratamiento secundario tienen una fauna modificada [12]. Los lodos secundarios contienen principalmente bacterias; sin embargo, los lodos se van enriqueciendo en protozoos y rotíferos, conforme aumenta su edad. Los rotíferos son un grupo de animales microscópicos que habitan en aguas dulces, tierra húmeda, musgos, etc. Los microorganismos que se encuentran en este tipo de inóculos crecen dentro de un consorcio microbiano, esto significa que existen diferentes especies de bacterias que actúan conjuntamente como una comunidad [4]. Dentro de este sistema complejo, todas las variedades de bacterias se benefician de las actividades de los demás. Es así que en un consorcio se pueden encontrar una

serie de microorganismos con diferentes habilidades metabólicas, incluyendo actividad proteolítica (degradación de proteínas y aminoácidos), sacarolítica (degradación de diversos tipos de azúcares), lipolítica (digestión de lípidos o grasas) y celulolítica (degradación de celulosa o material vegetal) [13].

Los sedimentos derivados del fondo de ecosistemas acuáticos, son posibles fuentes de microorganismos útiles en un proceso de tratamiento de agua residual. Valentine *et al.* mediante un estudio de sedimentos provenientes de varios cuerpos de agua, tales como lagos, ríos u océanos, encontraron que las condiciones ambientales determinan la actividad microbiana de estos inóculos microbianos que en algunos casos puede llegar a ser muy buena [14]. Cheng, Sumner *et al.* verificaron esta hipótesis al estudiar varios cuerpos acuáticos con condiciones ambientales diferentes. Sedimentos derivados de lagos y océanos mostraron capacidades metabólicas muy buenas, sin embargo, las especies bacterianas presentes varían de acuerdo a las condiciones ambientales de la fuente acuática [15].

Los inóculos microbianos se caracterizan en base a sus propiedades físico-químicas y biológicas tales como concentración de sólidos totales y volátiles, demanda química de oxígeno (DQO), actividades metabólicas, entre otras. El análisis de sólidos suspendidos totales (SST) es muy importante ya que permite cuantificar el material particulado en suspensión compuesto por sólidos volátiles y sólidos inertes, siendo los sólidos suspendidos volátiles (SSV) la fracción de los SST que se volatilizan a temperaturas de 550°C. La determinación de los SST es de gran utilidad durante el tratamiento biológico de las aguas residuales ya que representan una medida indirecta de la cantidad de biomasa presente en una muestra y permite monitorear el crecimiento de biomasa a lo largo del tiempo en un proceso biológico [10].

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) es otro parámetro muy importante en la caracterización de los inóculos microbianos ya que permite medir indirectamente la cantidad de materia orgánica que se encuentra presente en una muestra [16]. Mediante este método analítico se mide espectrofotométricamente el oxígeno equivalente a la materia orgánica oxidable químicamente, en la presencia de un agente oxidante fuerte (dicromato de potasio), en condiciones ácidas (ácido sulfúrico) y a alta temperatura.

La determinación de las actividades metabólicas de los inóculos microbianos es vital para una adecuada y completa caracterización. El crecimiento microbiano se da como consecuencia de la degradación de un sustrato orgánico, así que por medio de este se puede monitorear la actividad máxima específica de consumo del sustrato o de formación de producto bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.

Durante la caracterización de inóculos microbianos bajo condiciones aeróbicas se emplea un sustrato fácil de digerir. En bioensayos batch se monitorea la degradación de dicho sustrato por la acción de bacterias aeróbicas durante un periodo de tiempo bajo condiciones óptimas de laboratorio. La actividad máxima específica de consumo del sustrato se expresa como mg sustrato consumido por g SSV⁻¹ d⁻¹ o en mg sustrato consumido por L⁻¹ d⁻¹. La caracterización de inóculos microbianos aeróbicos empleando glucosa como sustrato ha demostrado ser muy efectiva y es ampliamente empleada. Por ejemplo, en un estudio realizado por Ochoa-Herrera y colaboradores se determinó la actividad máxima específica de consumo de glucosa de un cultivo enriquecido de bacterias aeróbicas presentes en lodos activados de una PTAR en Arizona en bioensayos batch [17]. La concentración de la glucosa en los bioensayos fue monitoreada con respecto al tiempo obteniéndose una actividad máxima específica de consumo de glucosa de los lodos activados de 9960.3 mg glucosa L⁻¹ d⁻¹.

Bajo condiciones anaeróbicas es muy complicado determinar la actividad máxima específica por medio de la medición de la concentración del sustrato a través del tiempo. La forma más eficiente de determinar la actividad máxima específica de lodos y sedimentos anaeróbicos es por medio de la tasa de producción de metano [18]. Este ensayo consiste en evaluar la capacidad de los microorganismos metanogénicos en convertir un sustrato orgánico en CH_4 y CO_2 a lo largo de un periodo de tiempo. La producción de metano en un ensayo de la actividad específica metanogénica se determina mediante el método de desplazamiento de líquido, cromatografía de gases y respirometría [10]. Anzola-Rojas y colaboradores reportaron que en un estudio de actividad metanogénica dentro de un reactor anaeróbico-aeróbico de lecho fijo y flujo ascendente con recirculación de la fase líquida, el ensayo de actividad metanogénica fue una herramienta eficiente para monitorear el comportamiento de las bacterias. La actividad máxima de producción de metano del inóculo microbiano aplicado para el tratamiento de aguas residuales de los barrios Tijuco, Preto y Villa São Carlos, SP, Brasil, fue de $2.37 \times 10^{-6} \text{ mmolCH}_4 \text{ mgSSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$ [19].

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar diferentes lodos y sedimentos como posibles inóculos microbianos para el tratamiento biológico de las aguas residuales. La caracterización físico-química junto con la determinación de las actividades metabólicas de los diferentes inóculos microbianos fue realizada bajo condiciones controladas de laboratorio. Los lodos y sedimentos fueron caracterizados en base al contenido de sólidos totales y a la demanda química de oxígeno. Las actividades metabólicas de los diferentes inóculos fueron determinadas bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas en bioensayos batch. Los inóculos microbianos estudiados incluyeron tanto lodos como sedimentos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales, lagunas artificiales y lagunas de estabilización.

2.3 Materiales y Métodos

2.3.1. Fuente de Lodos

Varios lodos y sedimentos fueron evaluados en este estudio: cuatro lodos provenientes de una PTAR de la ciudad de Quito, sedimentos de una laguna facultativa de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ucubamba- ETAPA en la ciudad de Cuenca y, finalmente, sedimentos obtenidos de una laguna artificial situada en el campus de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ). La PTAR de la ciudad de Quito de la cual se obtuvieron los lodos cuenta, entre otros, con un tanque de descarga, un bioreactor aeróbico y un hidrociclón. Se colectaron lodos pesados de la descarga (recirculados al tanque de sedimentación), lodos livianos y pesados del hidrociclón y lodos del afluente del bioreactor. Los lodos livianos del hidrociclón, pesados del hidrociclón, pesados de descarga y afluente del bioreactor fueron evaluados bajo condiciones aeróbicas. Mientras que los sedimentos de la laguna facultativa de ETAPA, Cuenca y los de la laguna artificial de la USFQ, así como también los lodos pesados del hidrociclón y los lodos pesados de descarga fueron evaluados bajo condiciones anaeróbicas. Todos los lodos y sedimentos se mantuvieron refrigerados a 4°C durante el almacenamiento.

2.3.2. Medio de Cultivo

La composición del medio basal mineral empleado en los bioensayos aeróbicos (MB-1) fue (en mg L⁻¹): NH₄Cl (280); K₂HPO₄ (250); MgSO₄·7H₂O (100); CaCl₂·2H₂O (13.27); extracto de levadura (10) y KH₂PO₄ (2050). El medio basal mineral usado en los bioensayos

anaeróbicos (MB-2) estaba compuesto de (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): NH_4Cl (280); K_2HPO_4 (250); $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (100); $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (13.27); extracto de levadura (10) y Na_2CO_3 (3750). Cada medio contenía 1 mL L^{-1} de la solución de elementos traza, cuya composición fue (en mg L^{-1}): H_3BO_3 (50), $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2000), ZnCl_2 (50), $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (90), $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2000), $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (30), $\text{NaSeO}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (100), EDTA(1000), resazurina (200) y 36% HCl (1 mL L^{-1}) [17]. El pH del medio basal se ajustó a 7.2 – 7.3 con HCl or NaOH , de acuerdo a lo requerido.

2.3.3. Cultivo Enriquecido

Los cultivos enriquecidos se realizaron bajo condiciones aeróbicas en experimentos batch por triplicado en matraces Erlenmeyer (250 mL) alimentados con 47.5 mL de medio basal (MB-1) y 5% en volumen de inóculo microbiano (2.5 mL). El inóculo se obtuvo de los lodos livianos del hidrociclón, lodos del afluente del bioreactor, lodos pesados del hidrociclón y lodos pesados de descarga de la PTAR en Quito. Se agregó glucosa como sustrato al medio basal mineral en cantidades de 2 g L^{-1} . Los bioensayos fueron colocados en una plancha de calentamiento a 30°C con una agitación leve. Cada matraz fue tapado con algodón con el fin de permitir una mejor transferencia de oxígeno con la atmósfera exterior. Se tomaron 1.5 mL de muestra para determinar el crecimiento microbiano mediante la medición de la densidad óptica a diferentes intervalos de tiempo.

2.3.4. Actividad máxima específica de consumo de glucosa

La actividad máxima específica de consumo de glucosa se evaluó en bioensayos batch identificados como tratamiento y control abiótico. Los ensayos tratamiento incluyen el inóculo microbiano mientras que el control abiótico carece de inóculo. Los bioensayos se realizaron por triplicado en matraces Erlenmeyer (250 mL). Los bioensayos tratamiento se alimentaron con 95 mL de medio basal (MB-1) y 5% en volumen de inóculo microbiano. El inóculo microbiano se obtuvo del cultivo enriquecido previamente realizado utilizando los lodos pesados de descarga. Por el contrario, las muestras de control se alimentaron con 95 mL de medio basal (MB-1) y 5% en volumen de agua destilada. Se agregó glucosa al medio basal mineral en cantidades de 2 g L^{-1} . Los bioensayos fueron colocados en una plancha de calentamiento a 30°C con una agitación leve. Se tapó cada matraz con algodón, con el fin de permitir una mejor transferencia de oxígeno desde la atmósfera exterior. Se tomaron 2 mL de muestra para la medición de glucosa a diferentes intervalos de tiempo. La actividad máxima específica de consumo de glucosa se expresó en $\text{mg glucosa degradada g SSV}^{-1}\text{d}^{-1}$.

2.3.5. Actividad máxima específica metanogénica

La actividad máxima específica metanogénica se determinó en experimentos batch utilizando botellas de suero, botellas de vidrio (165 mL) con 40 mL de medio basal (MB-2) y 20% en volumen de inóculo microbiano. El inóculo se obtuvo de los lodos pesados del hidrociclón, lodos pesados de descarga, sedimentos de la laguna facultativa de ETAPA, Cuenca y sedimentos de la laguna artificial USFQ. El sustrato evaluado se agregó al medio basal en cantidades requeridas de acetato (2.5 g DQO L^{-1}) o glucosa (2 g L^{-1}). Las unidades de los sustratos se expresan en función del oxígeno requerido para degradar el compuesto, g DQO.

Las botellas se sellaron con tapones de caucho y tapas de aluminio y se obtuvieron condiciones anaeróbicas cambiando la atmósfera con N_2 . Los bioensayos se mantuvieron en una incubadora con temperatura controlada a 30 ± 2 °C. Se monitoreó la generación de metano durante 2 o 3 días de acuerdo al método de medición de metano descrito en los métodos analíticos [20]. La actividad máxima específica de generación de metano se expresó en $mg\ DQO-CH_4g\ SSV^{-1}\ d^{-1}$.

2.3.6. Métodos Analíticos

Determinación de sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determinaron de acuerdo al protocolo descrito en Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales ya sea mediante el método de crisoles o de filtros [20]. En el caso del empleo de crisoles, estos fueron colocados en el horno mufla 1400 (Barnstead Thermolyne, Dubuque, Iowa USA) a 550°C, para asegurar que los residuos orgánicos se quemaran por completo. Posteriormente, se colocaron los crisoles en un desecador y se registró su peso (m_C). A continuación se añadió al crisol una cantidad específica de la muestra de lodo o sedimento en volumen o en masa. El peso del crisol con la muestra húmeda también se registró (m_{LH}). La muestra fue sometida a un proceso de evaporación en un horno (Precision Scientific, Winchester, VA, USA) a 105°C durante toda la noche. Finalmente se colocó los crisoles en el horno mufla a 550°C por 3 horas y finalmente se registró el peso de los crisoles con cenizas (m_{ASH}).

En la determinación de SST y SSV por medio de filtros se emplearon filtros de microfibras de vidrio 934-AH con diámetro de 90 mm (Whatman, Piscataway, NJ, USA). Una vez registrado

el peso del filtro, se procedió a armar el equipo de filtración al vacío. Se filtró un volumen específico de muestra de lodo y el filtro húmedo se sometió a un proceso de evaporación en un horno a 105°C durante toda la noche. Al igual que el procedimiento anterior, al día siguiente se registró el peso del filtro con el lodo seco (m_{LS}). A continuación se colocó el filtro en el horno mufla a 550°C por 3 horas se registró el peso del mismo con las cenizas (m_{ASH}).

La determinación del contenido de sólidos totales suspendidos (SST), sólidos volátiles suspendidos (SSV) y cenizas (ASH) se realizó empleando las ecuaciones 1, 2 y 3, respectivamente.

$$SST [g L^{-1}] = \frac{m_{LS}}{V_{Lodo}} \quad \text{Ec. 1}$$

$$SSV [g L^{-1}] = \frac{m_{LS} - m_C}{V_{Lodo}} \quad \text{Ec. 2}$$

$$ASH [g L^{-1}] = \frac{m_{ASH}}{V_{Lodo}} \quad \text{Ec. 3}$$

Determinación de la Demanda Química de Oxígeno

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) soluble se realizó mediante un método colorimétrico de acuerdo al protocolo descrito en Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales [20]. Para la determinación de la demanda química de oxígeno se empleó una solución de digestión de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) con ácido sulfúrico concentrado, y una solución de ácido sulfúrico concentrado con nitrato de plata en una relación de 6 g $AgNO_3$ por kg H_2SO_4 . La demanda química de oxígeno de las muestras analizadas se determinó en base a una curva de calibración empleando estándares de hidrogeno ftalato de potasio (KHP). Los estándares de KHP equivalentes a 50, 100, 250, 500

y $750 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ fueron preparados a partir de una solución madre de KHP equivalente a $1000 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. En la determinación de la demanda química de oxígeno soluble, los estándares, las muestras y los blancos fueron preparados de acuerdo a la tabla 2.1. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un proceso de digestión a 150°C por dos horas y finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) a una longitud de onda de 600nm . Previo a la preparación de las muestras, estas fueron centrifugadas durante 15 minutos y de ser necesario diluidas para estar dentro del rango de los estándares. Las muestras de lodos fueron analizadas por triplicados, y los estándares y blancos se corrieron durante cada medición para minimizar errores instrumentales y asegurar la precisión del método analítico.

Tabla 2.1: Preparación de muestras para determinar la demanda química de oxígeno (DQO)

Muestra (mL)	Solución de digestión (mL)	Ácido sulfúrico (mL)	Volumen final (mL)
2.5	1.5	3.5	7.5

Medición de la Densidad Óptica

La densidad óptica se midió utilizando un espectrofotómetro, Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) a una longitud de onda de 600nm . La absorbancia de cada muestra se registró a varios intervalos de tiempo.

Medición de Glucosa

La medición de glucosa se realizó colorimétricamente en base a un método desarrollado por Dubois y colaboradores [21]. Brevemente, en un tubo de ensayo se agregaron 0.5 mL de 5 % (v/v) de fenol y 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado a 0.5 mL de cada muestra previamente centrifugada. Se mezcló cada tubo, se dejó reposar durante 7 minutos y posteriormente se calentó a 45°C durante 20 minutos. Una vez fríos los tubos de ensayo, se midió la concentración de glucosa de cada muestra en base a la intensidad del color a una longitud de onda de 490 nm empleando el espectrofotómetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA). La determinación de la glucosa se realizó empleando una curva de calibración con estándares de glucosa. A partir de una solución madre de glucosa de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ se prepararon estándares de 20, 40, 60 y 80 $\mu\text{g glucosa mL}^{-1}$ como se encuentran descritos en la tabla 2.2. Las muestras se tomaron a diferentes intervalos de tiempo. Estándares y blancos se corrieron durante cada medición para minimizar errores instrumentales y asegurar la precisión del método analítico.

Tabla 2.2: Preparación de estándares de glucosa para la determinación colorimétrica de la misma

No.	Volumen de solución madre (mL)	Agua (mL)	Concentración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	0	0.5	0
2	0.1	0.4	20
3	0.2	0.3	40
4	0.3	0.2	60
5	0.4	0.1	80
6	0.5	0	100

Medición de Metano

El volumen del gas metano generado durante los bioensayos anaeróbicos se determinó mediante el método de desplazamiento de líquido utilizando botellas de suero [22]. El reactor batch anaeróbico (botella de suero de 160 mL), se conectó mediante una manguera a una botella de suero (160 mL colocado de forma inversa) suministrada con la solución de NaOH (2%) previamente sellada con un tapón de caucho y una tapa de aluminio. El biogás formado en los ensayos anaeróbicos está compuesto principalmente por dióxido de carbono y metano. A medida que el dióxido de carbono (CO_2) pasa a través de la solución de hidróxido de sodio, este es convertido en bicarbonato y es absorbido; mientras que el metano generado desplaza a dicha solución. El volumen de hidróxido de sodio desplazado, equivalente al biogás formado, se recolectó en un recipiente vacío a través de una aguja acoplada a la botella de NaOH. Finalmente, se determinó el metano generado expresado como actividad metanogénica específica en $\text{mg DQO-CH}_4 \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Figura 2.3)

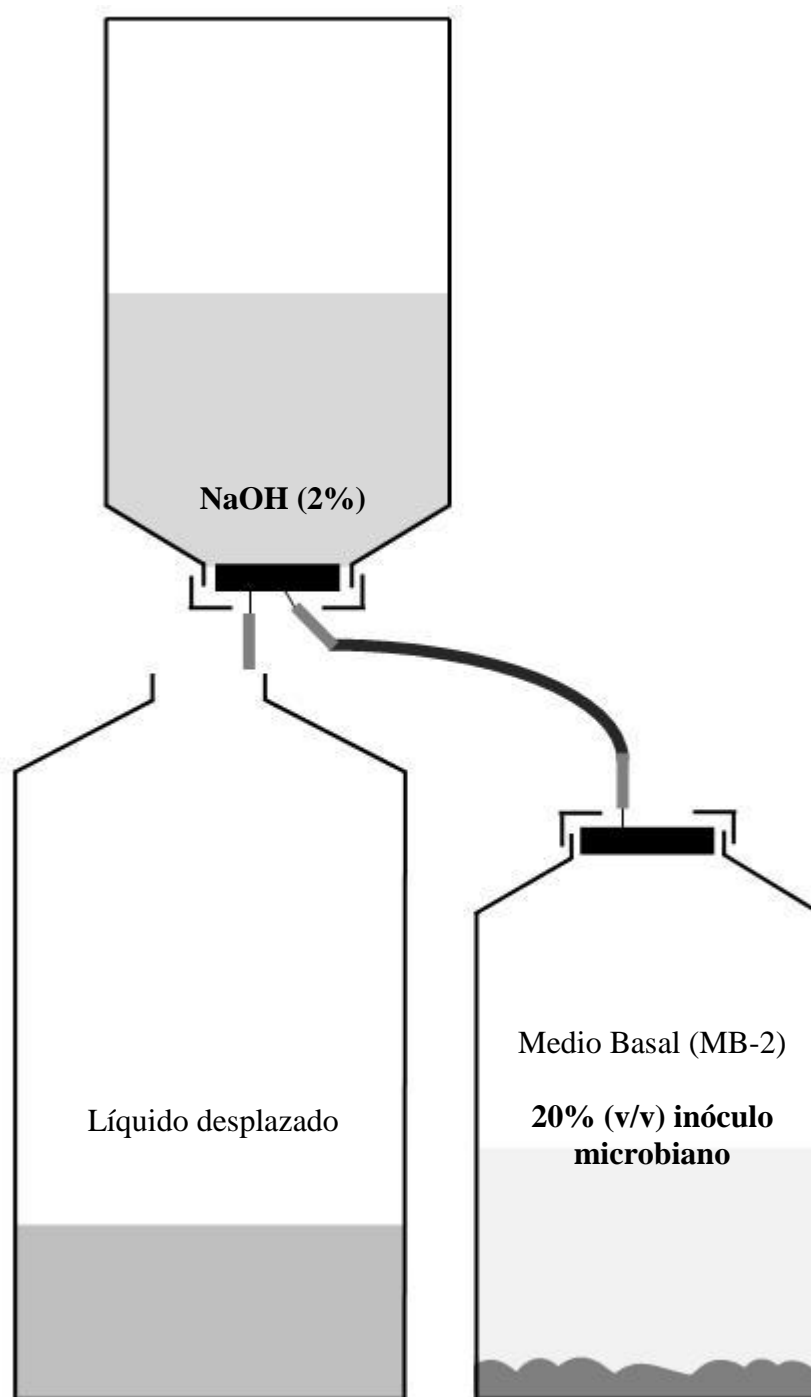


Figura 2.3: Esquema de la medición de metano por el método volumétrico de desplazamiento de la solución de hidróxido de sodio

2.3.7. Reactivos

Glucosa ($\geq 99\%$), fenol ($\geq 99\%$) y nitrato de plata ($\geq 99\%$) se obtuvieron de Reactivos H.V.O (Quito, Pichincha, Ecuador). Ácido sulfúrico (95-97%) e hidróxido de sodio ($\geq 99\%$) se adquirieron de MERCK (Darmstadt, Alemania). Ácido Clorhídrico (37.2%) y ácido acético (99.5%) se obtuvieron de Fisher Scientific (Fan Lan, New Jersey, USA). Ácido butírico (99%), ácido propiónico (99.5%) y dicromato de potasio (99.4%) se obtuvieron de J.T. Baker Inc. (Phillipsburg, New Jersey, USA).

2.4 Resultados y Discusión

En el presente trabajo de investigación se realizaron experimentos batch para evaluar la eficiencia de diferentes lodos y sedimentos como inóculos microbianos para el tratamiento biológico de las aguas residuales. Los inóculos microbianos fueron caracterizados en base a la cantidad de sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, cenizas y demanda química de oxígeno. Posteriormente se determinó las actividades máximas específicas de dichos inóculos microbianos bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas.

2.4.1 Caracterización físico-químico de inóculos microbianos

2.4.1.1 Sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y cenizas (ASH)

La determinación de la cantidad de material particulado, biomasa y las cenizas presentes en cada inóculo microbiano se realizó mediante una cuantificación de los sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles y cenizas, respectivamente. Existen dos métodos analíticos para determinar los sólidos suspendidos presentes en una muestra ambiental, por medio de crisoles o por medio de filtros, los protocolos respectivos se encuentran descritos en la sección de Materiales y Métodos. El método de crisoles permite caracterizar las muestras sólidas o espesas, mientras que el método de filtros se emplea para examinar muestras líquidas. En este estudio los lodos pesados del hidrociclón y los lodos pesados de descarga de una PTAR en Quito, así como también los sedimentos de una laguna facultativa de la ciudad de Cuenca y los de la laguna artificial de la USFQ fueron caracterizados por el método de

crisoles. Por el contrario, los lodos líquidos, tales como lodos livianos del hidrociclón y lodos afluentes del bioreactor provenientes de una PTAR en Quito fueron analizados por el método de filtros. En la tabla 2.3 y 2.4 se presentan los datos tabulados y los valores calculados de SST, SSV y ASH para los diferentes inóculos microbianos evaluados en este estudio.

Tabla 2.3: Sólidos suspendidos totales (SST), volátiles (SSV) y cenizas (ASH) de los inóculos microbianos sólidos caracterizados por el método de crisoles.

Lodos o Sedimentos	SST ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	SSV ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ASH ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	SSV/SST (%)
Pesado Hidrociclón	13.59 \pm 0.03	8.93 \pm 0.05	4.66 \pm 0.03	65.7
Pesado Descarga	1.85 \pm 0.12	1.20 \pm 0.16	0.65 \pm 0.04	64.9
Laguna USFQ	12.65 \pm 0.18	7.23 \pm 0.007	5.42 \pm 0.19	57.2
Laguna Facultativa	11.48 \pm 0.45	3.52 \pm 0.46	7.96 \pm 0.05	30.7

Tabla 2.4: Sólidos suspendidos totales (SST), volátiles (SSV) y cenizas (ASH) de los inóculos microbianos líquidos caracterizados por el método de filtros.

Lodos o Sedimentos	SST ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	SSV ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ASH ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	SSV/SST (%)
Afluente Bioreactor	2.04 \pm 0.01	1.56 \pm 0.04	0.48 \pm 0.03	76.5
Liviano Hidrociclón	3.68 \pm 0.25	2.82 \pm 0.24	0.87 \pm 0	76.6

De los lodos y sedimentos espesos evaluados en este estudio se encontró que los lodos pesados del hidrociclón contienen la mayor cantidad de biomasa presente por unidad de volumen con un valor de SSV de 8.93 g L^{-1} . A continuación se encuentran los sedimentos de la laguna

artificial USFQ con un valor cercano al de los lodos pesados del hidrociclón de 7.23 g L^{-1} . Mientras que los sedimentos de la laguna facultativa y los lodos de descarga de la PTAR contienen poca cantidad de biomasa 3.52 y 1.20 g L^{-1} , respectivamente.

En cuanto a los lodos líquidos examinados, los lodos afluente del bioreactor y los lodos livianos del hidrociclón, se determinó que estos contienen valores muy pequeños de sólidos suspendidos volátiles en el rango de 1.56 y 2.82 g L^{-1} , respectivamente. Estos valores están muy por debajo del contenido de SSV de la mayoría de los lodos espesos, como los lodos pesados del hidrociclón y los sedimentos de la laguna USFQ.

La relación de la cantidad de SSV con respecto a la medida de SST está alrededor del 60% para los lodos pesados del hidrociclón y los lodos pesados de descarga, mientras que los lodos líquidos evaluados muestran relaciones SSV/SST sobre el 70%. Estos resultados son consistentes con la literatura, un lodo primario que no ha recibido tratamiento contiene entre 60% a 80% de sólidos volátiles [10], lo cual corresponde justamente al tipo de lodos que se está examinando en este estudio y se perfilan como los inóculos más saludables.

En el caso de los sedimentos evaluados, los de la laguna facultativa y los de la laguna artificial USFQ, la relación entre SSV/SST está por debajo de los valores reportados en la literatura para inóculos saludables. Esto indica que la muestra contiene gran cantidad de material inerte, representado como ceniza, y que la concentración de microorganismos es pequeña en comparación con los otros inóculos microbianos evaluados.

2.4.1.2. Demanda química de oxígeno (DQO)

La medición de la demanda química de oxígeno es un parámetro muy importante durante la caracterización de los inóculos microbianos ya que determina la cantidad de materia orgánica

presente en la muestra debido a la acción de un agente oxidante fuerte. La medición de la DQO se realizó de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. Brevemente, la muestra a ser analizada en presencia de una solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico concentrado fue sometida a un proceso de digestión a 150°C. A continuación se determinó la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 600 nm. La DQO se determinó comparando dicho valor con una curva de calibración con estándares de KHP equivalentes a 0, 50, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg O₂ L⁻¹. La figura 2.4 muestra la curva de calibración empleada para la determinación de la demanda química de oxígeno.

De acuerdo a la ley de Beer, existe una relación lineal entre la absorbancia determinada y la concentración de una muestra dada [16]. En la Figura 2.4 se puede observar claramente dicha relación lineal entre la absorbancia medida y la concentración de los estándares de KHP expresada como mg O₂ L⁻¹, mientras mayor es la absorbancia medida, mayor es la concentración de oxígeno. El factor de correlación para la determinación de la DQO, R², es 0.991. Por lo tanto se puede concluir que este método colorimétrico es muy efectivo y puede ser aplicado con alto grado de precisión y confiabilidad para la determinación de las concentraciones de DQO en una muestra dada.

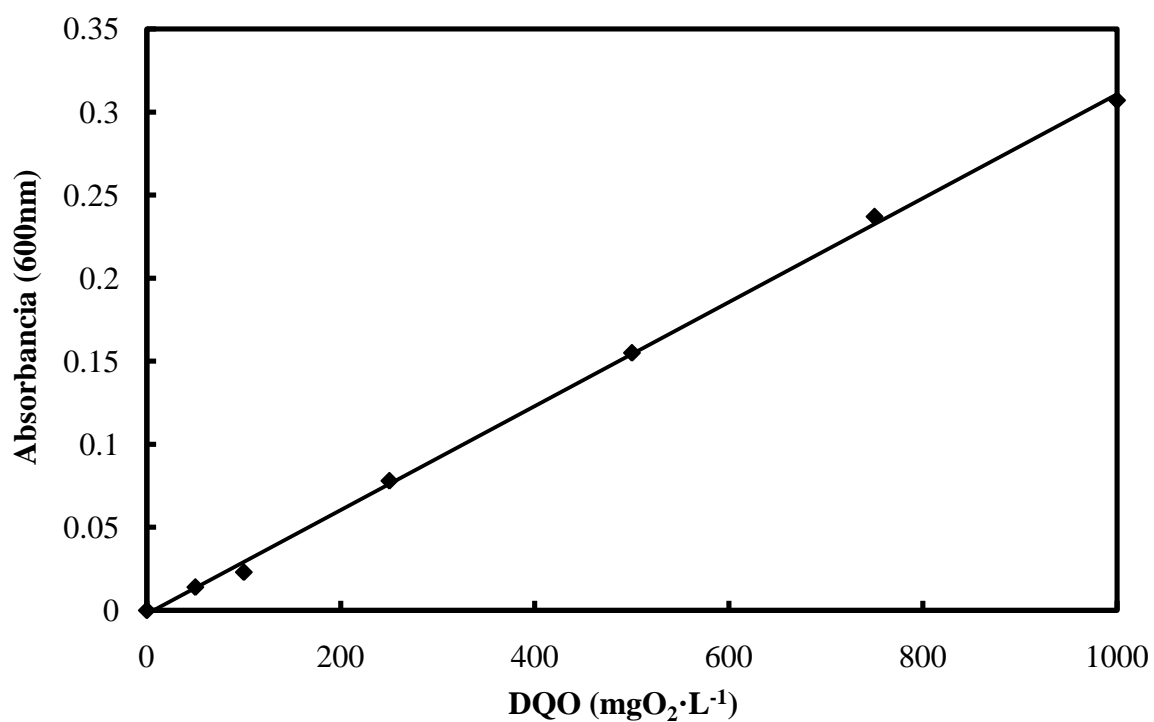


Figura 2.4: Curva de calibración para la determinación de la demanda química de oxígeno empleando estándares de KHP con concentración en el rango de 0 a 1000 mg O₂ L⁻¹.

La tabla 2.5 presenta los resultados correspondientes a la demanda química de oxígeno de cada lodo y sedimento evaluados en este estudio. Los lodos pesados del hidrociclón y los del afluente del bioreactor provenientes de una PTAR presentan la mayor cantidad de materia orgánica con valores de 2020 y 2326 mg O₂ L⁻¹, respectivamente. Los lodos pesados del hidrociclón corresponden a la fracción sólida separada en el hidrociclón de la PTAR en Quito. Por lo tanto se espera que la materia orgánica se concentre dando como resultado una elevada medición de DQO. Los lodos afluentes del bioreactor representan los sólidos que ingresan al sistema de tratamiento biológico de aguas residuales de la PTAR, por lo tanto contienen más DQO que los lodos obtenidos de otros procesos de la PTAR, como es el caso de los lodos pesados del hidrociclón.

Los lodos livianos del hidrociclón de la PTAR corresponden a la fase líquida separada en el hidrociclón cuya concentración de DQO, 737 mg O₂ L⁻¹, es menor que aquella presente en la fase sólida como es el caso de los lodos pesados del hidrociclón y mayor que la de los sedimentos y los lodos de descarga debido a la naturaleza misma de estos inóculos microbianos.

Los lodos pesados de descarga de la PTAR en Quito, junto con los sedimentos de la laguna facultativa y los sedimentos de la laguna artificial registran valores de DQO significativamente menores, en el rango de 140 a 210 mg O₂ L⁻¹; siendo los sedimentos de la laguna facultativa los que contienen menor cantidad de materia orgánica. Los lodos de descarga provenientes de una PTAR como su nombre lo indica constituyen los lodos de salida (efluente) del proceso de tratamiento biológico de aguas residuales, por lo tanto la cantidad de materia orgánica presente es muy pequeña, 168 mg O₂ L⁻¹. En el caso de los sedimentos tanto de la laguna USFQ como de la laguna facultativa, estos inóculos provienen de fuentes de agua no contaminada por lo

que se esperan valores bajos de DQO, lo cual es consistente con datos de la literatura. Shang-Shyng Yang estudió la relación entre la producción de metano y el nivel de contaminación de ríos y lagos de sedimentos en Taiwán mediante la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO) de estos sedimentos. De los 5 lagos analizados se encontró que la DQO de estos oscila entre los 49.3 mg L^{-1} y 296.0 mg L^{-1} [23].

Tabla 2.5: Demanda química de oxígeno en $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ de los diferentes inóculos microbianos evaluados.

Lodos o sedimentos	DQO (mg O₂ L⁻¹)
Afluyente Bioreactor	2325.97 ± 69.24
Laguna Estabilización	208.40 ± 70.69
Laguna USFQ	141.75 ± 23.56
Liviano Hidrociclón	736.57 ± 55.84
Pesado Descarga	168.01 ± 33.50
Pesados Hidrociclón	2020.18 ± 100.51

2.4.2. Actividades metabólicas

Las actividades metabólicas de los microorganismos presentes en los diferentes inóculos microbianos se determinaron bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas en bioensayos batch. Previo a la determinación de dichas actividades fue necesario desarrollar un método analítico para medir la glucosa en los diferentes bioensayos. A continuación se presentan los resultados de la medición de la glucosa.

La concentración de la glucosa en los diferentes bioensayos se monitoreó mediante un método colorimétrico descrito en la sección de Materiales y Métodos. Una curva de calibración con

estándares de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 mg-glucosa L^{-1} fue construida para determinar la concentración de la glucosa en una muestra dada.

De acuerdo a la ley de Beer y mediante la aplicación de estándares con concentraciones conocidas se determinó la concentración de glucosa. En la Figura 2.5 se observa que existe una relación lineal entre la absorbancia medida y la concentración de glucosa de las muestras expresadas como $\mu g\ mL^{-1}$, mientras mayor es la absorbancia medida, mayor es la concentración de glucosa. En base a la curva de calibración construida con los estándares de glucosa se determinó la concentración de este azúcar en las muestras de los bioensayos de tratamiento y control.

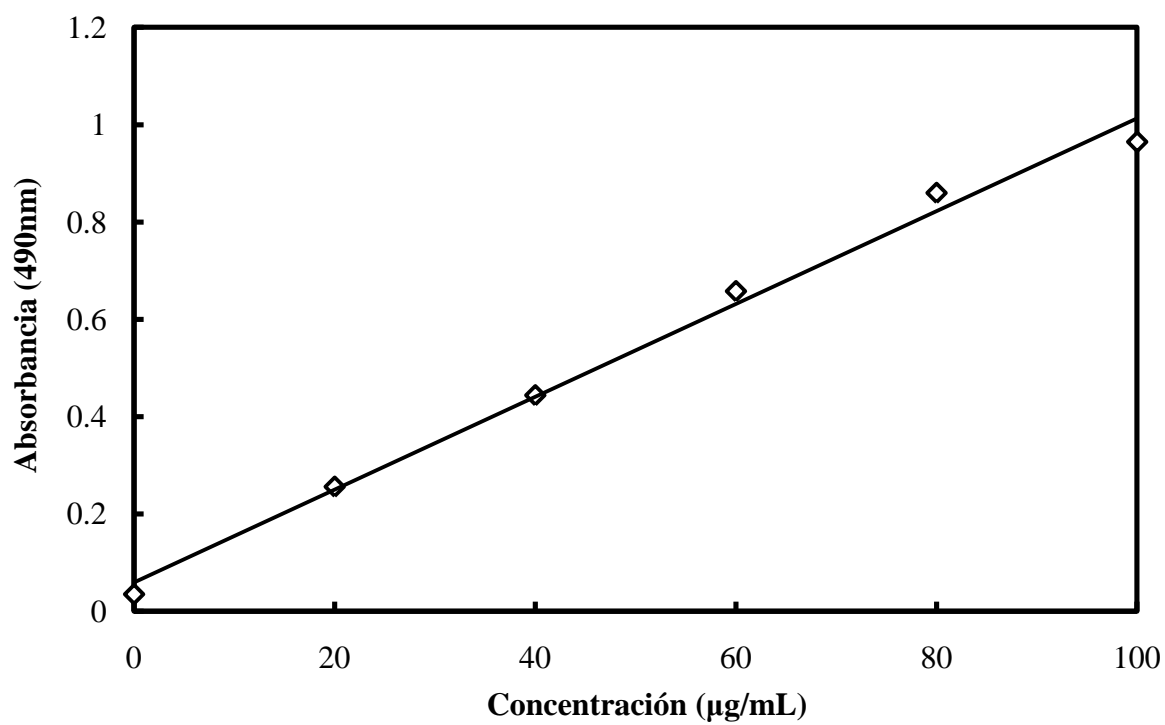


Figura 2.5: Curva de calibración para la determinación de la glucosa empleando estándares con concentraciones en el rango de 0 a 100 $\mu\text{g-glucosa mL}^{-1}$.

2.4.2.1 Actividades metabólicas bajo condiciones aeróbicas

Previo a la determinación de las actividades máximas específicas de consumo de glucosa, de las bacterias aeróbicas presentes en los inóculos microbianos, fueron evaluados en función de la efectividad de generación de cultivos microbianos enriquecidos.

Cultivos microbianos enriquecidos

Un cultivo enriquecido promueve el crecimiento de un grupo específico de microorganismos dentro de un consorcio microbiano. Al agregar un sustrato de fácil degradación por los microorganismos deseados, a un medio rico en micro y macro nutrientes, en condiciones ideales para el crecimiento, se estimula el crecimiento de la especie microbiana deseada [4]. En este estudio se incentivó el crecimiento de bacterias aeróbicas degradadoras de materia orgánica empleando glucosa como sustrato en bioensayos batch. El crecimiento microbiano se determinó midiendo la densidad óptica en los bioensayos realizados con los diferentes lodos de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos.

Las mediciones de la densidad óptica son ampliamente utilizadas para monitorear el crecimiento microbiano. Williams y colaboradores estudiaron el efecto de las nanopartículas inorgánicas sobre el crecimiento microbiano en base a mediciones de densidad óptica a través del tiempo [24]. Mediante este método pudieron concluir que el crecimiento de *E.Coli* no se afecta por la presencia de nanopartículas de sílice, óxidos de sílice/hierro y oro. En la Figura 2.6 se presenta las curvas de crecimiento microbiano en base a las mediciones de las densidades ópticas de los cultivos microbianos enriquecidos realizados con los cuatro lodos analizados en este estudio. En todos los lodos evaluados se puede apreciar que las gráficas corresponden a la curva típica de crecimiento microbiano que consta de una fase de

adaptación, una fase de crecimiento exponencial, una fase de mantenimiento y la fase de muerte. En el caso de los microorganismos presentes en los lodos pesados del hidrociclón y los lodos de descarga la fase de adaptación fue aproximadamente de 12 horas. Mientras que los microorganismos presentes en los lodos líquidos livianos del hidrociclón y los lodos afluente del bioreactor requirieron de un periodo de adaptación más corto de aproximadamente 5 horas.

Durante la fase de crecimiento exponencial que corresponde a la metabolización de nutrientes y a una reproducción de los microorganismos a la máxima velocidad, se encontró que los lodos livianos del hidrociclón y los lodos afluentes del bioreactor experimentaron un crecimiento exponencial desde las 5 horas hasta las 20 horas de tratamiento. Por el contrario, la fase de crecimiento exponencial experimentada por los lodos pesados de descarga y lodos pesados del hidrociclón fue menor, 8 horas de tratamiento.

Finalmente, se puede observar que la fase de mantenimiento fue similar para todos los lodos evaluados en este estudio y se presentó entre las 18 y 20 horas de haber transcurrido el experimento.

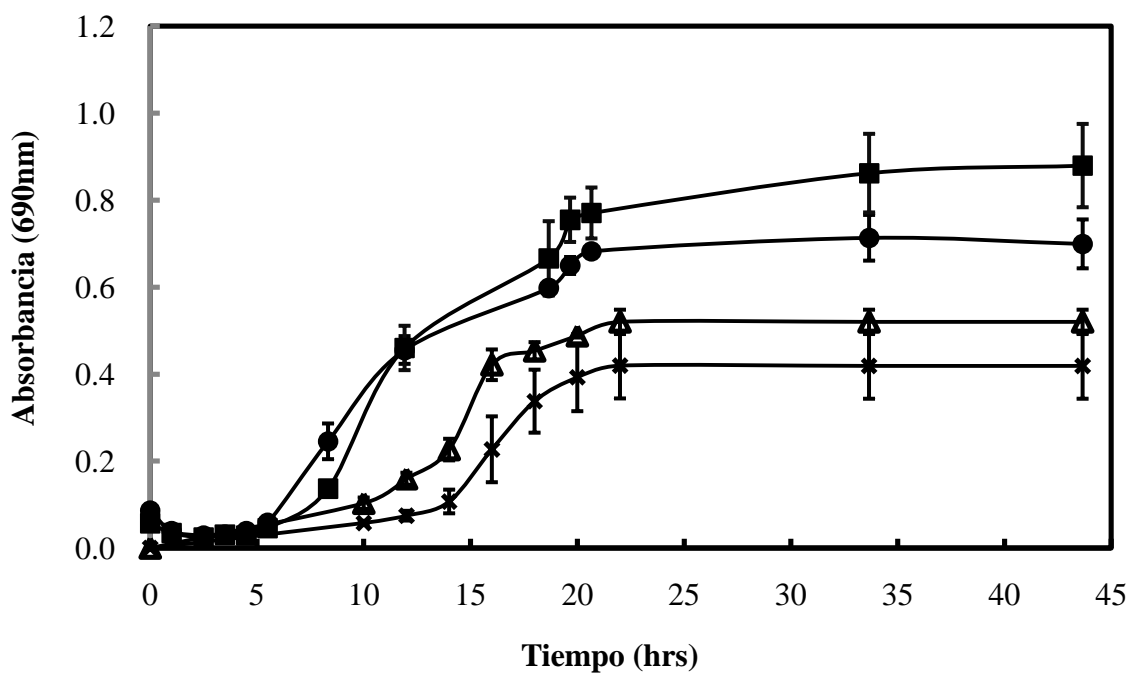


Figura 2.6: Curvas de crecimiento microbiano de un cultivo enriquecido de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa en presencia de 10% (v/v) de lodos provenientes de varias fuentes y 2000 mg L⁻¹ de glucosa. Leyenda: (●) Lodos livianos del hidrociclón, (■) Lodos afluente del bioreactor, (▲) Lodos pesados del hidrociclón, (×) Lodos pesados de descarga. Las barras de error representan las desviaciones estándares de los bioensayos por triplicado.

Al comparar los cuatro lodos evaluados se puede establecer que los mejores cultivos enriquecidos, con las mayores concentraciones de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa, se obtuvieron con los lodos livianos del hidrociclón seguido de los lodos afluentes del bioreactor, a continuación los lodos pesados del hidrociclón y los lodos pesados de descarga. Los dos primeros inóculos se caracterizan por estar expuestos a cierto tipo de oxigenación y por lo tanto promueven el crecimiento microbiano de bacterias aeróbicas. Es así que, el lodo afluente del bioreactor al presentar la mayor concentración de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa fue el que se empleó en los bioensayos para determinar la actividad metabólica aeróbica.

Adicionalmente, los lodos afluentes del bioreactor y los lodos livianos del hidrociclón son las muestras con mayor porcentaje de sólidos suspendidos volátiles con relación a los sólidos suspendidos totales (%SSV/SST) 76.5 y 76.6, respectivamente, y a su vez son los inóculos microbianos que presentan mayor crecimiento de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa. Estos resultados son consistentes con datos de la literatura en los que los inóculos más saludables o eficientes son aquellos cuya %SSV/SST está entre 70 y 80% [10]. Como era de esperarse, a medida que disminuye el %SSV/SST también disminuye el crecimiento microbiano. Los lodos pesados del hidrociclón y los lodos pesados de descarga contienen menor %SVV/SST alrededor de 65 %, lo cual se ve reflejado en un crecimiento microbiano más lento.

La utilización de cultivos enriquecidos ha demostrado ser altamente eficiente durante los procesos de degradación. Schmitt *et al.* publicaron un estudio en el que se evaluó el efecto de agregar un cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de acetato a un reactor anaeróbico [25]. Inóculos provenientes de procesos de digestión no lograron remover una cantidad

significativa de materia orgánica, mientras que después de agregar un cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de acetato se registró un cambio drástico en la eficiencia de remoción de la materia orgánica.

2.4.2.1.2 Actividades máximas específicas de consumo de glucosa

En vista de que los lodos afluentes del bioreactor demostraron tener la mayor concentración de bacterias aerobias degradadores de glucosa, se determinó la capacidad de consumo de dicho sustrato en experimentos batch de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos.

La Figura 2.7 muestra la concentración de la glucosa con respecto al tiempo empleando un cultivo enriquecido proveniente de los lodos afluentes del bioreactor. En los tratamientos que contienen la glucosa y un cultivo microbiano rico en bacterias aerobias degradadoras de glucosa, se puede observar que la concentración del azúcar disminuye con respecto al tiempo, es así que después de 20 horas de tratamiento prácticamente todo el azúcar ha sido consumido. Mientras que en los controles abióticos, en ausencia de microorganismos, la concentración de glucosa permanece constante durante todo el experimento. En base a estos resultados se estableció que las bacterias presentes en el cultivo enriquecido son las responsables de la degradación de la glucosa.

La actividad máxima específica de consumo de glucosa se calculó en base a las pendientes de las curvas de degradación. Para el tratamiento se estableció una actividad máxima específica de 180.73 mg glucosa consumida $L^{-1} h^{-1}$. En un estudio realizado por Ochoa-Herrera con lodos activados de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) Randolph en Tucson, Arizona se reportó una actividad máxima específica de consumo de glucosa de 414.97 mg

glucosa $\text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$ [17]. Por lo tanto, los lodos activados de la PTAR en Arizona poseen una actividad máxima específica de consumo de glucosa 2 veces mayor que aquella de los lodos afluentes del bioreactor evaluados en este estudio. Una posible explicación para este hecho es que los lodos activados se caracterizan por poseer una concentración rica de bacterias aeróbicas ya que provienen de bioreactores oxigenados.

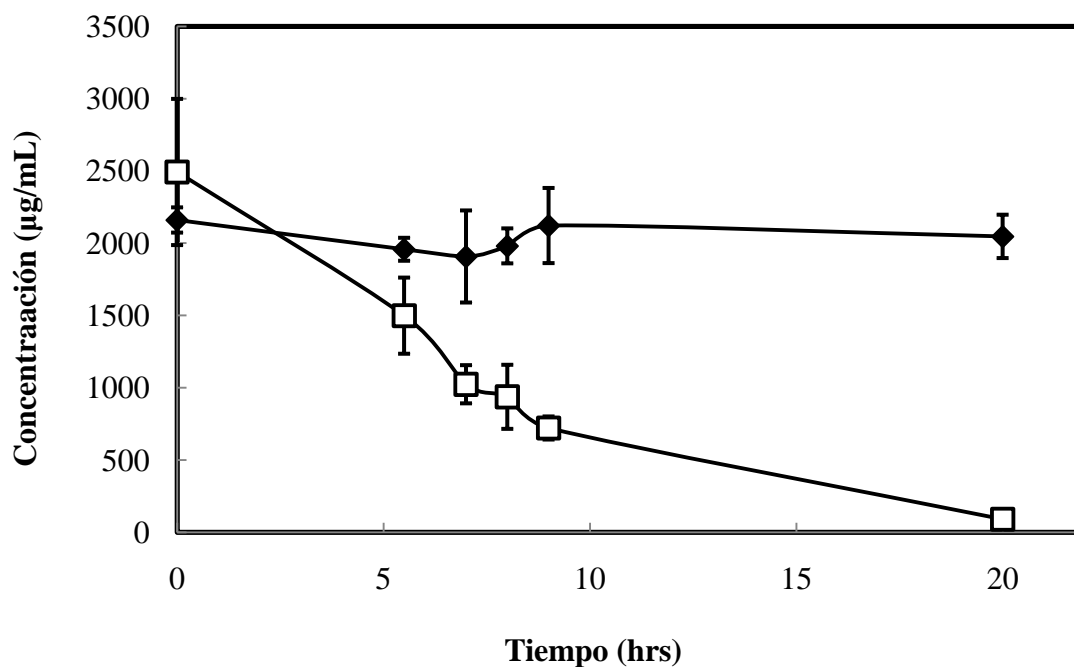


Figura 2.7: Degradación aeróbica de la glucosa con respecto al tiempo en presencia de 5% (v/v) de un cultivo enriquecido con los lodos afluente del bioreactor y 2000 mg•L⁻¹ de glucosa. Leyenda: (◆) control abiótico (glucosa + medio basal mineral) (□) tratamiento (glucosa + medio basal mineral + cultivo enriquecido) Las barras de error representan las desviaciones estándares de los bioensayos por triplicado.

2.4.2.2 Actividad máxima específica de generación de metano bajo condiciones anaeróbicas

La producción de metano de los microorganismos presentes en los lodos y sedimentos evaluados en este estudio se determinó en experimentos batch de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. Estas actividades metabólicas se estudiaron en presencia de dos sustratos, acetato o glucosa, y el metano generado fue cuantificado por el método de desplazamiento del líquido empleando una solución de hidróxido de sodio al 2% en volumen ($\rho = 1.0207 \text{ g mL}^{-1}$) [26]. Teniendo en consideración que el volumen de hidróxido de sodio desplazado es igual al volumen de metano producido y aplicando la ley de los gases ideales se calculó el número de moles de metano producidos por gramo de sólidos volátiles en suspensión de los diferentes inóculos evaluados ($\text{moles CH}_4 \text{ g SSV}^{-1}$).

La figura 2.8 presenta la generación de metano con respecto al tiempo para los diferentes lodos y sedimentos anaeróbicos evaluados en este trabajo de investigación. En todos los casos, durante las primeras 24 horas de tratamiento se registró una producción exponencial de metano seguida por una fase de estabilización de producción de dicho gas. Esta curva de generación de metano corresponde a la curva típica de crecimiento microbiano. Los lodos pesados de descarga provenientes de una PTAR presentaron la mayor producción de metano después de 24 horas de tratamiento con una formación de $0.019 \text{ moles CH}_4 \text{ g SSV}^{-1}$. A continuación se encuentran los sedimentos tanto de la laguna artificial como los de la laguna facultativa con una producción un orden de magnitud más baja, $0.0039 \text{ moles CH}_4 \text{ g SSV}^{-1}$. Finalmente, los lodos pesados del hidrociclón provenientes de una PTAR produjeron la menor cantidad de metano, $0.001 \text{ moles CH}_4 \text{ g SSV}^{-1}$ en 24 horas. Los lodos líquidos, lodos afluentes del bioreactor y los lodos livianos del hidrociclón al ser considerados primordialmente lodos aeróbicos no fueron evaluados bajo condiciones anaeróbicas.

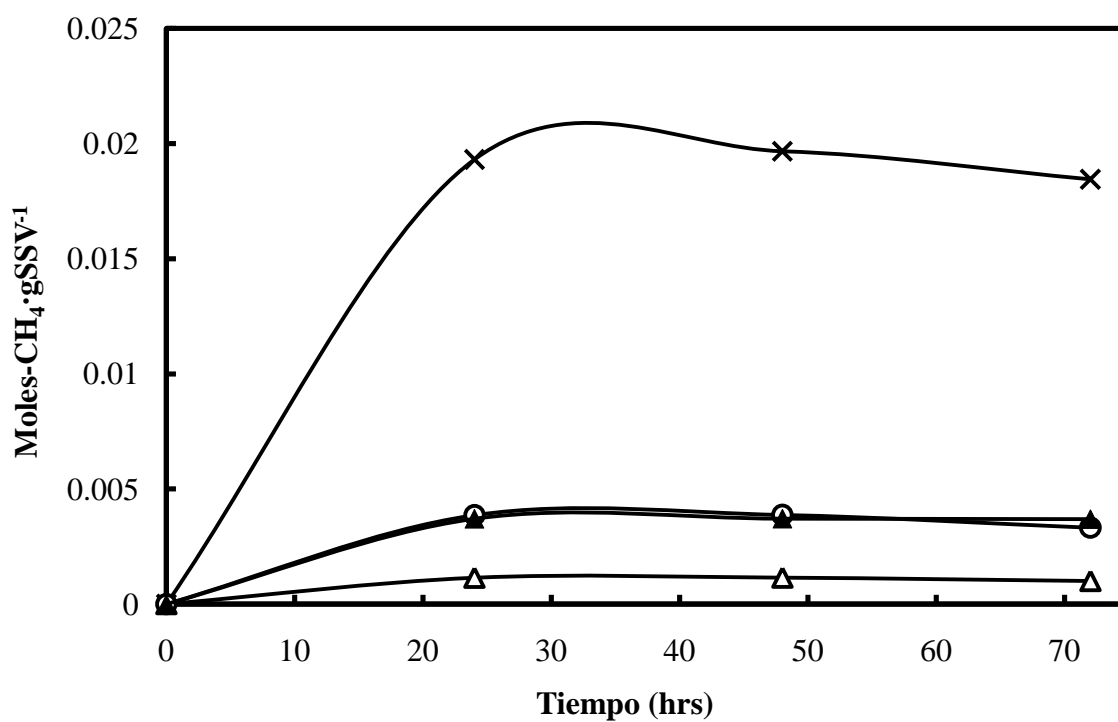


Figura 2.8: Generación de metano utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con 2.5 g DQO-acetato L-1. Leyenda: (Δ) Lodos pesados del hidrociclón de una PTAR, (O) Sedimentos de la laguna facultativa, ETAPA en Cuenca, (X) Lodos pesados de descarga de una PTAR y (▲) Sedimentos de la laguna artificial USFQ.

La actividad máxima específica de generación de metano se calculó a partir de la cantidad de metano formado y se expresó en $\text{g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. La tabla 2.6 presenta la actividad máxima específica de generación de metano para los lodos y sedimentos anaeróbicos evaluados en este estudio.

Tabla 2.6: Actividad máxima específica metanogénica de varios lodos y sedimentos utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con $2.5 \text{ g DQO-acetato L}^{-1}$.

Lodo	$\text{gDQO-CH}_4 \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$
Pesado del hidrociclón	0.07
Pesado de descarga	1.24
Laguna facultativa	0.25
Laguna USFQ	0.24

Los lodos pesados de descarga provenientes de una PTAR presentan la mayor actividad metanogénica con un valor de $1.24 \text{ g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, seguidos de los sedimentos de la laguna facultativa y laguna artificial USFQ con una actividad significativamente menor y finalmente los lodos pesados del hidrociclón que prácticamente no presentan actividad metanogénica. La mayor actividad metanogénica obtenida en este estudio se encuentra por encima del promedio comúnmente reportado en la literatura. Por ejemplo, en un estudio realizado por Omil y colaboradores se determinó la actividad metanogénica de un lodo granular proveniente de un reactor anaeróbico de una planta piloto de tratamiento de aguas ácidas [27]. Después de 75 días de estabilización del bioreactor, en presencia de $2.5 \text{ g DQO-acetato L}^{-1}$ se registró una actividad metanogénica de $0.55 \text{ g DQO-CH}_4 \text{ gSSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. En otro estudio realizado por Htnan *et al.* se evaluó la actividad máxima específica de generación de

metano en un reactor UASB (Upflow anaerobic sludge bed) [28]. El lodo anaeróbico en presencia de 2 g DQO-acetato L^{-1} registró una actividad metanogénica de 0.66 g DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. Por lo tanto la actividad máxima específica metanogénica de los lodos pesados de descarga evaluados en este estudio es dos veces mayor que aquellas reportadas en la literatura utilizando el mismo sustrato.

Por el contrario, los sedimentos de los ecosistemas acuáticos han demostrado no ser buenos inóculos microbianos. Muxi *et al.* estudiaron los sedimentos de una laguna alimentada con aguas residuales provenientes de una fábrica de producción de levaduras como inóculos microbianos para montar en un digestor anaeróbico. La actividad máxima específica metanogénica fue de 0.025 g DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹ (390 μ mol CH₄ gSSV⁻¹ d⁻¹) [29]. Los sedimentos de las lagunas analizados en este estudio presentan actividades mayores a lo presentado en la literatura, sin embargo son muy bajas en comparación al lodo pesado de la descarga que se obtuvo de una PTAR.

Las actividades metanogénicas se evaluaron mediante métodos estandarizados, [20] por esta razón se utilizó acetato como sustrato. El acetato es el compuesto más fácil de degradar anaeróbicamente ya que participa únicamente de la metanogénesis, el paso final de la degradación anaeróbica. Con el objetivo de estudiar la degradación anaeróbica completa se empleó glucosa como sustrato y se evaluó la actividad máxima específica de generación de metano de cada uno de los lodos y sedimentos anaeróbicos estudiados de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos.

La Figura 2.9 muestra la producción de metano de varios lodos y sedimentos a través del tiempo utilizando glucosa como sustrato. En todos los casos, la fase de producción de metano fue de 18 a 24 horas, seguida de una fase de mantenimiento. De igual manera que en los

bioensayos realizados con acetato como sustrato, los lodos pesados de descarga registraron la mayor producción de metano, 0.10 a 0.14 moles CH_4 g SSV^{-1} . Los sedimentos de la laguna facultativa y de la laguna artificial USFQ, y los lodos pesados del hidrociclón de una PTAR presentaron una producción de metano significativamente menor en el rango de 0.02 a 0.05 moles CH_4 g SSV^{-1} .

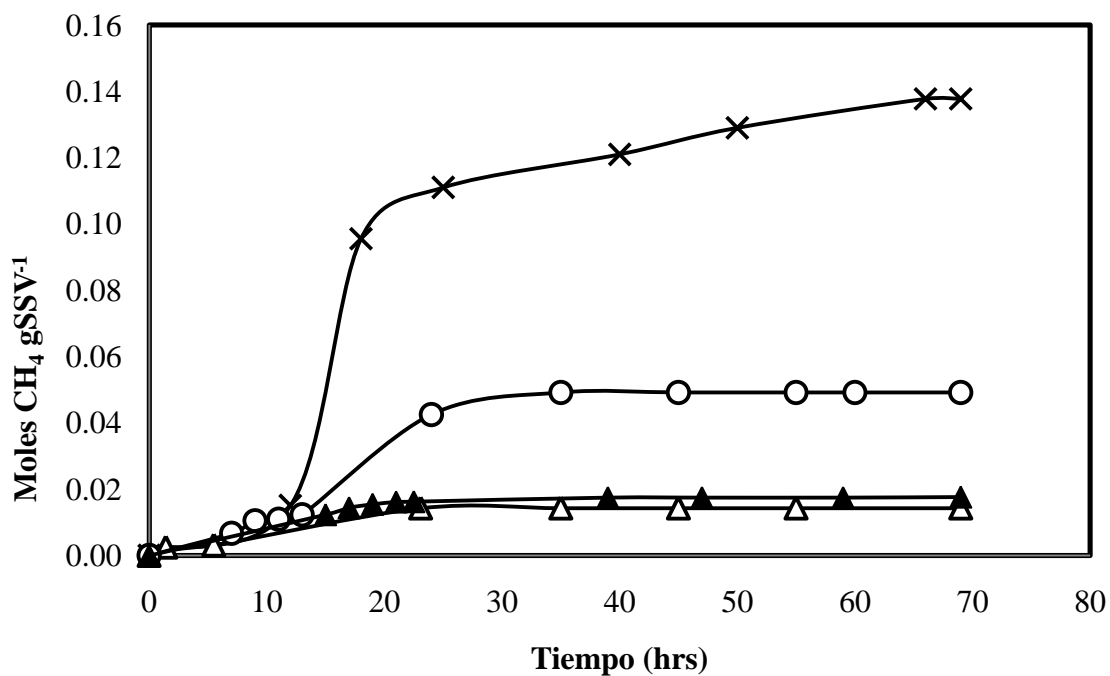


Figura 2.9: Generación de metano utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con 2.5 g DQO glucosa L-1. Leyenda: (Δ) Lodos pesados del hidrociclón de una PTAR, (\circ) Sedimentos de la laguna facultativa, ETAPA en Cuenca, (\times) Lodos pesados de descarga de una PTAR, (\blacktriangle) Sedimentos de laguna artificial USFQ.

Las actividades máximas específicas de generación de metano utilizando glucosa como sustrato expresadas en $\text{g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ se encuentran tabuladas en la tabla 2.7. De igual manera que empleando acetato como sustrato, los lodos pesados de descarga presentan la mayor actividad máxima específica de generación de metano, la cual es 4 a 6 veces mayor que aquellas de los lodos pesados del hidrociclón, sedimentos de la laguna facultativa y artificial.

Tabla 2.7: Actividades máximas específicas metanogénicas de varios lodos y sedimentos anaeróbicos utilizando 20% (v/v) de inóculo microbiano con 2.5 g DQO-glucosa L^{-1} .

Lodos o Sedimentos	$\text{g DQO-CH}_4 \cdot \text{gSSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
Pesado de Hidrociclón	1.30
Pesado de descarga	8.15
Laguna estabilización	1.52
Laguna USFQ	2.70

Si se comparan las actividades metanogénicas obtenidas utilizando acetato y glucosa, se puede establecer que en ambos casos los lodos pesados de descarga poseen la mayor actividad metanogénica. Sin embargo, en presencia de glucosa existe una mayor producción de metano con una actividad máxima específica de $8.15 \text{ g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, en comparación a $1.24 \text{ g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ empleando acetato como sustrato. El hecho de que la actividad metanogénica con glucosa sea significativamente mayor que aquella con acetato se puede atribuir a la estructura química de estos sustratos. Durante la degradación anaeróbica por cada mol de glucosa se producen 3 moles de metano, mientras que por cada mol de acetato se produce una mol de metano. Por lo tanto, si bien es cierto que el acetato es un sustrato más

fácil de digerir en comparación con la glucosa, esta última contiene mayor cantidad de carbono por lo tanto se produce mucho más metano que con el acetato. Sin embargo, se nota que la actividad máxima específica metanogénica determinada mediante un sustrato de glucosa no es 3 veces mayores a la actividad calculada en base al sustrato de acetato. Toda biodegradación tiene como producto biomasa, debido al crecimiento bacteriano. Por esta razón se debe considerar el rendimiento celular, cada especie de microorganismo tiene un rendimiento específico de crecimiento en base al sustrato aplicado y por esto no se cumple la relación de 1:3, dictada por relaciones estequiometrias, entre las actividades máximas específicas en base al acetato y la glucosa [4].

2.5 Conclusiones

Los inóculos microbianos evaluados en este estudio fueron exitosamente caracterizados en base a sus propiedades físico-químicas y biológicas. Una relación en porcentaje de los sólidos suspendidos totales con los sólidos suspendidos volátiles (%SST/SSV) entre 70 y 80% representa una fuente de microorganismos saludables y un muy buen candidato a inóculo microbiano para el tratamiento biológico de las aguas residuales. De los diferentes lodos y sedimentos evaluados en este estudio, los lodos provenientes de la PTAR demostraron ser más eficientes que los sedimentos de lagunas facultativas o artificiales; es así que, los lodos afluentes del bioreactor presentaron la mejor actividad máxima específica de consumo de glucosa bajo condiciones aeróbicas. Mientras que bajo condiciones anaeróbicas los lodos pesados del hidrociclón reportaron la mayor actividad máxima específica de formación de metano. Finalmente, en base a esta caracterización de inóculos microbianos se obtuvieron los parámetros biológicos críticos, mediante los cuales se podrá diseñar y dimensionar un sistema de tratamiento de aguas residuales en modo de operación continuo.

2.6 Referencias Bibliográficas

1. Ramalho, R., *Tratamiento de Aguas Residuales*. 2nd ed. 1993, Barcelona: Reverte S.A.
2. Flores, O.M.R. and I.E. Carbajal, *Las aguas residuales municipales como fuentes terrestres de contaminación de la zona marino-costal en la región de América Latina y el Caribe*. 2001, México D.F.: Programa de la Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA).
3. Deen, T., *Unsafe water kills more people than war, Ban says on World Water Day*. UN News Service. 2010: Inter Press Service.
4. Stolp, H., *Microbial Ecology: Organisms, Habitats, Activities*. 1996, New York: Cambridge University Press.
5. Romero-Rojas, J.A., *Tratamiento de aguas residuales: teoría y principios de diseño*, ed. E.E.C.d. Ingeniería. 1999, Santafé de Bogotá.
6. Jenkins, D., M.G. Richard, and G.T. Daigger, *Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming and other solids separation problems*. 3 ed. 2004, London: CRC Press LLC.
7. Irwin, P.L., et al., *Evidence for a bimodal distribution of Escherichia coli doubling times below a threshold initial cell concentration*. BMC Microbiology. Vol. 10. 2010. 207.
8. Ingraham, J.L. and C.A. Ingraham, *Introducción a la microbiología*, ed. H. Prentiss. 1998, Barcelona: Editorial Reverté.
9. Valsaraj, K.T., *Elements of environmental engineering: thermodynamics and kinetics*. 2000, Boca Raton: CRC Press.
10. Metcalf, E., *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. 2003, New York: Mc Graw-Hill.

11. Granai, C. and R.E. Sjogren, *In Situ and Laboratory Studies of Bacterial Survival Using a Microporus Membrane Sandwich*. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 41. 1981. 190-196.
12. Qasim, S.R., *Wastewater Treatment Plants: Planning, design and operation*. 2000, Boca Raton: CRC Press
13. López-Perez, T., L. Domínguez-Malfavón, and J. García-Mena, *Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario, en la producción de vinagre*. 2006.
14. Valentine, D. and W. Reeburgh, *New Perspectives on anaerobic methane oxidation*. Environmental Microbiology. Vol. 2. 2000. 477-484.
15. Cheng, C.-Y., et al., *Aquatic Sediments*. Water Environment Research. Vol. 70. 1998. 780-807.
16. Skoog, D.A. and D.M. West, *Fundamentos de química analítica*. 2005: Thomson.
17. Ochoa-Herrera, V., et al., *Toxicity of fluoride to microorganisms in biological wastewater treatment systems*. Water Research. Vol. 43. 2008. 3177-3186.
18. Dolfing, J. and W. Bloemen, *Characterization of anaerobic sludge by determination of the methane production rate*. Antonie van Leeuwenhoek. Vol. 50. 1984.
19. Anzola-Rojas, M.d.P., A. Oliveira-Netto, and M. Zaiat, *Actividad metanogénica específica en un reactor anaerobio-aerobio aplicado al tratamiento de agua residual doméstica*. Interciencia. Vol. 22. 2008. 284-289.
20. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20 th ed, ed. L.S. Clesceri, A.E. Greenberg, and A.D. Eaton. 1998, Washington D C: American Public Health Association.
21. DuBois, M., et al., *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical Chemistry Vol. 28. 1956. 350-356.
22. Field, J.A., *Parameters Measurements* Wageningen Agricultural University. 1987.

23. Yang, S.-S., *Methane production in river and lake sediments*. Environmental Geochemistry and Health. Vol. 20. 1998. 245-249.
24. Williams, D., S. Ehrman, and T.P. Holoman, *Evaluation of the microbial growth response to inorganic nanoparticles*. Journal of Nanobiotechnology. 2006.
25. Schmit, C.G., et al., *Activated Sludge and Other Aerobic Suspended Culture Processes* Water Environment Research. Vol. 71. 2009. 1127-1193.
26. Wang, L.K. and Y.-T. Hung, *Handbook of environmental engineering: Advanced physicochemical treatment*. Vol. Volume 5. 2007, Totowa: Humana Press.
27. Omil, F., et al., *Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids*. Biotechnology and Bioengineering. Vol. 57. 1998. 676-685.
28. Hutnan, M., et al., *Methanogenic and nonmethanogenic activity of granulated sludge in anaerobic baffled reactor*. Chemistry Papers. Vol. 56. 1999. 374-379.
29. Muxi, L., et al., *Characterization of a methanogenic sludge to be used as inoculum for a high-rate reactor*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 8. 1992. 632-634.

Capítulo III

Puesta en marcha y estabilización de un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor) escala laboratorio para el tratamiento de aguas residuales domésticas

3.1 Resumen

En los países en vías de desarrollo se estima que el 90% del agua residual no tratada es descargada en cuerpos o fuentes de agua naturales, afectando negativamente a la salud pública y el medio ambiente. El tratamiento biológico de aguas residuales bajo condiciones anaeróbicas constituye una alternativa sustentable para preservar el ecosistema, no poner en riesgo la salud de los seres vivos y conservar el recurso hídrico. El agua residual es tratada bajo condiciones anaeróbicas por la acción de microorganismos, obteniéndose un efluente libre de contaminación y adicionalmente biogás rico en metano, un producto con gran valor energético. En el presente trabajo de investigación se diseñó y puso en marcha un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket

Reactor) en modo de operación continuo para el tratamiento de aguas residuales a escala de laboratorio. El reactor UASB empacado con sedimentos provenientes de una laguna artificial fue alimentado con una muestra sintética de agua residual cuya carga de materia orgánica varió entre 3 y 7.5 g de demanda química oxígeno (DQO) de ácidos grasos volátiles (AGV) por cada litro de alimentación. La variación de la DQO, la producción de metano y el crecimiento microbiano fueron monitoreados con respecto al tiempo para determinar la eficiencia del tratamiento del agua residual en el reactor UASB. La mayor eficiencia de degradación (48%) se alcanzó con una carga orgánica de alimentación de 3 g DQO AGV L⁻¹ y con un tiempo de residencia hidráulico de 5 días.

3.2 Introducción

Las aguas residuales son los efluentes provenientes de las actividades domésticas, industriales y comerciales que se caracterizan por su elevada concentración de partículas en suspensión, materia orgánica, nutrientes, compuestos antropogénicos y patógenos [2]. En América Latina las aguas residuales no tratadas son descargadas directamente en cuerpos o fuentes de agua naturales poniendo en riesgo al medio ambiente y a la salud pública [3]. Las descargas de aguas residuales no tratadas afectan a la flora y fauna acuática ya que generan una disminución en la concentración de oxígeno soluble, puede llevar a la eutrofización y ocasionar toxicidad, entre otros [4]. La salud pública se ve afectada ya que los seres humanos al consumir agua contaminada con descargas de aguas residuales presentan enfermedades infecciosas que les llega a ocasionar la muerte. De acuerdo al Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), hoy en día el consumo de agua contaminada causa la muerte a más personas que todas las formas de violencia lo hacen juntas, incluyendo los conflictos armados y las guerras. La situación es tan alarmante que a nivel mundial un niño fallece cada 20 segundos por enfermedades relacionadas con el consumo de agua contaminada [3].

Actualmente, el tratamiento biológico de aguas residuales constituye una alternativa sustentable y promisorio para el tratamiento y conservación del recurso hídrico, la protección del ecosistema y la salud pública con bajos costos de operación y mantenimiento. Estos tratamientos biológicos o tratamientos secundarios se caracterizan por eliminar o reducir la contaminación orgánica presente en el agua residual (AR) mediante la acción de los microorganismos, principalmente bacterias [5]. Los tratamientos biológicos de agua residual

se pueden categorizar en base al agente oxidante utilizado durante el metabolismo microbiano. Si la degradación de la materia orgánica por parte de las bacterias ocurre en presencia de oxígeno se conoce como degradación aeróbica y en ausencia de oxígeno se conoce como degradación anaeróbica [6].

El proceso de degradación aeróbica es altamente efectivo para el tratamiento de AR, sin embargo los costos de operación son elevados ya que se requiere oxigenar el sistema y tratar la gran cantidad de biomasa generada. Se estima que bajo condiciones aeróbicas el 50% de la demanda química de oxígeno (DQO) de las AR se transforma en biomasa y el 50% restante en calor [1]. Por el contrario, en un proceso anaeróbico el 90% de DQO convierte en metano y el 10% se convierte en biomasa [1]. La degradación de la materia orgánica mediante un proceso anaeróbico es efectiva con bajos costos de operación y mantenimiento, obteniéndose adicionalmente biogás como producto lo cual es muy valioso por su contenido energético. Si bien es cierto que los dos procesos, aeróbicos y anaeróbicos, pueden ser empleados para eliminar por completo los contaminantes orgánicos presentes en el agua residual ya sea individualmente o en conjunto, el proceso anaeróbico es muy atractivo y cada vez más utilizado.

El proceso de degradación anaeróbica de la materia orgánica se encuentra descrito en la figura 3.1. Este proceso es muy complejo y está integrado por múltiples reacciones dependientes entre sí, divididas en cuatro etapas que son: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y finalmente metanogénesis [7].

Primeramente, la materia orgánica degradable compleja, principalmente polímeros, se hidroliza por la acción de enzimas hidrolíticas en moléculas más pequeñas, monómeros. A continuación las bacterias fermentativas llevan a cabo la acidogénesis, degradando los

monómeros producidos anteriormente a ácidos grasos volátiles (AGV) incluyendo el ácido acético, propiónico, butírico y valérico, así como también a hidrógeno y dióxido de carbono [1]. La remoción del hidrógeno es necesaria para obtener una buena producción de ácidos grasos, ya que las bacterias fermentativas se inhiben a altas concentraciones de este compuesto. Posteriormente, ocurre la acetogénesis, en esta etapa las bacterias acetogénicas transforman los AGV de cadenas largas a acetato, hidrógeno y dióxido de carbono. Finalmente, las bacterias metanogénicas acetoclásticas (consumidoras de acetato) transforman el ácido acético a hidrógeno molecular y metano. De manera simultánea el dióxido de carbono e hidrógeno formado en las reacciones anteriormente mencionadas son transformadas en acetato y metano mediante las bacterias homoacetogénicas y metanogénicas hidrogenotróficas, respectivamente [1, 8].

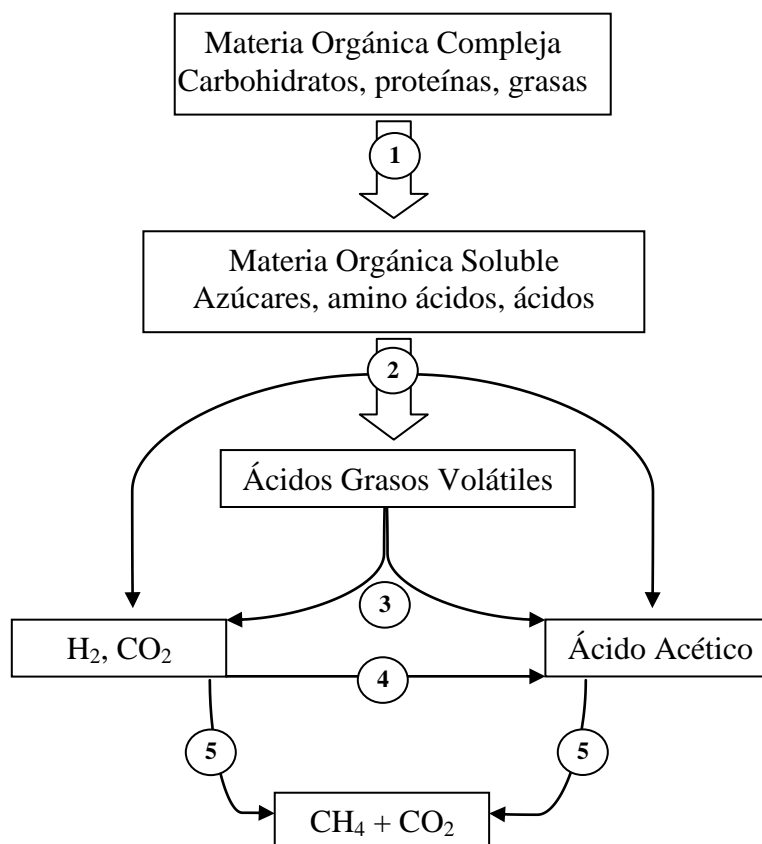


Figura 3.1: Proceso de metabolización de la materia orgánica por microorganismos anaeróbicos. Grupos Bacterianos: 1. Hidrólisis- Enzimas Hidrolíticas 2. Acidogénesis- Bacterias Fermentativas 3. Acetogénesis- Bacterias Acetogénicas Sintróficas 4. Bacterias homoacetogénicas 5. Bacterias metanogénicas [1].

La metabolización anaeróbica es aplicada a gran escala en los tratamientos de AR. La mayoría de los procesos anaeróbicos de tratamiento de AR no requieren sedimentación primaria, pero es conveniente remover previamente la arena y el material inerte mediante un tratamiento preliminar para evitar su acumulación en el lodo, lo cual desplaza a la biomasa [9]. El desplazamiento de la biomasa puede perjudicar el proceso de tratamiento de AR ya que al perder biomasa disminuye la concentración de los microorganismos utilizados para la degradación anaeróbica. Si existe la posibilidad de una variación de carga orgánica o caudal es recomendable incluir un tanque de ecualización previo al reactor anaeróbico o biodigestor ya que los microorganismos anaeróbicos son muy sensibles a los cambios en la concentración de la materia orgánica alimentada [10].

En la tabla 3.1 se indican los principales procesos anaeróbicos de tratamiento de aguas residuales, estos procesos se dividen en tres tipos de acuerdo al estado físico en el que ocurre el crecimiento microbiano; crecimiento suspendido, crecimiento adherido e híbrido.

Tabla 3.1: Procesos anaeróbicos de tratamiento de aguas residuales [9]

Tipo	Nombre Común	Uso
Crecimiento Suspendido	Digestión anaeróbica: tasa estándar, “tasa alta”, una y dos etapas. Proceso anaeróbico de contacto	Estabilización, remoción de materia orgánica (DQO) y sólidos suspendidos (SS)
Crecimiento Adherido	Filtro anaeróbico	Remoción de DQO, estabilización
Híbrido	Lagunas anaeróbicas	Remoción de DQO y SS
	Tanque séptico	Tratamiento primario, remoción de grasas, DQO y SS
	Proceso de flujo ascendente y manto de lodos anaeróbicos o UASB	Remoción de DQO y SS
	Tanque Imhoff	Remoción de grasas, DQO, SS y digestión anaeróbica de dichos sólidos

En un proceso de crecimiento suspendido los microorganismos se encuentran activos en una suspensión acuosa lograda mediante una agitación continua. Generalmente se aplica este tipo de reactores para el tratamiento de aguas residuales con cargas orgánicas altas, tales como aguas residuales con alto contenido de grasas, aceites, calcio, etc. Mientras que los bioreactores de crecimiento adherido cuentan con algún material fijo, como PVC, madera, carbón, piedra, etc., sobre el cual crece la biomasa, y se le denomina una película biológica. Generalmente se aplican este tipo de bioreactores para el tratamiento de AR con concentraciones altas de materia orgánica ya que este proceso tiene mayor capacidad de soportar toxicidad y/o cargas orgánicas altas. Sin embargo, los procesos de crecimiento adherido están propensos a la obstrucción del flujo de la alimentación a medida que aumenta el tamaño de la biopelícula por crecimiento de biomasa o por la introducción de partículas

solidas en suspensión [11]. Los sistemas híbridos son una combinación de un reactor de crecimiento adherido con un proceso de crecimiento suspendido. Los reactores de sistemas híbridos se utilizan para tratar sustratos limitantes en cuanto a la velocidad de degradación como compuestos orgánicos volátiles, nitratos, etc. [10].

Los procesos anaeróbicos adicionalmente pueden ser clasificados en base al tiempo de retención del inóculo microbiano dentro del bioreactor. Los tratamientos anaeróbicos de “tasa estándar” son aquellos que cuentan con un tiempo de retención del lodo microbiano igual al tiempo de retención hidráulico (TRH). Un bioreactor de crecimiento suspendido sin recirculación es uno de tasa estándar ya que el inóculo microbiano y la biomasa producida abandonan el sistema conjuntamente con el agua residual tratada. Por el contrario, los tratamientos anaeróbicos de “tasa alta” se refieren a los bioreactores que cuentan con un tiempo de retención de lodos diferente al TRH. Estos tratamientos anaeróbicos retienen los lodos dentro del bioreactor, generando de esta manera altas concentraciones de microorganismos, mientras que el AR fluye a través del reactor. Los bioreactores de crecimiento suspendido con recirculación y los bioreactores de crecimiento adherido son ejemplos de tratamientos anaeróbico de “tasa alta” [1].

En la categoría de los reactores de crecimiento adherido se encuentra el reactor de flujo ascendente anaeróbico y manto de lodos, UASB, desarrollado en el los años 70 por el Dr. Gatza Lettinga y colaboradores en la Universidad de Wageningen en Holanda. Este es un reactor de “tasa alta”, en el cual el agua residual entra en contacto con el lodo (inóculo microbiano) dando como resultado la degradación anaeróbica de la materia orgánica y la producción de biogás. El agua residual pasa desde la sección inferior del reactor, donde se ubica el lecho del lodo, hacia la parte superior del reactor. El movimiento ascendente de las

burbujas gaseosas producidas en la digestión anaeróbica causa turbulencia hidráulica la cual proporciona una mezcla dentro del reactor sin necesidad de la utilización de equipos mecánicos. En la sección superior del reactor se encuentra un separador de tres fases, el cual separa la fase acuosa (el agua residual), el lodo sólido (inóculo microbiano) y el biogás formado (CO_2 y CH_4). En las paredes del reactor UASB se encuentran deflectores que permiten que los lodos suspendidos se asienten y que el gas formado se dirija hacia la campana de colección. En la parte superior del reactor UASB se encuentra la salida lateral para el efluente [1].

Una de las ventajas más grandes del reactor UASB es la eliminación del sistema de tratamiento primario durante el tratamiento biológico del AR. A medida que el afluente ingresa al reactor, este es sometido a fuerzas de compresión por acción de la gravedad promoviendo la sedimentación de los sólidos suspendidos y eliminando de esta manera la necesidad de un sedimentador. Adicionalmente, en términos energéticos y financieros, el proceso anaeróbico se caracteriza por ser altamente eficiente ya que no requiere del sistema de aireación que se aplica en un tratamiento aeróbico, se genera biogás con elevado valor energético y la producción de la biomasa es cinco veces menor que aquella formada durante el tratamiento aeróbico [12]. Lettinga y colaboradores estudiaron por primera vez el uso de un reactor USB para el tratamiento del agua residual bajo condiciones anaeróbicas [13]. El empleo de un reactor UASB promueve el desarrollo de un lodo de calidad superior con buenas características de sedimentabilidad y actividad metabólica. Adicionalmente, el proceso de construcción de un reactor UASB es simple y no existe la necesidad de una mezcla mecánica [13]. Las limitaciones encontradas del reactor UASB están relacionadas con períodos de estabilización muy largos, varias semanas y en algunos casos incluso hasta 3 y 4 meses.

Las condiciones óptimas de operación de un reactor depende de varios parámetros incluyendo el tiempo de retención hidráulica (TRH), velocidad de alimentación del afluente, tasa de alimentación orgánica (DQO afluente), tiempo de retención de lodo (TRH_L), temperatura de operación y la presencia de factores inhibidores en el reactor UASB [14]. Un cambio en cualquiera de estos parámetros operacionales afecta la eficiencia de degradación de la materia orgánica presente en el AR y, por lo tanto, la tasa de producción de biogás. La Corporación de Investigación de Agricultura Brasileña estudió los efectos de las condiciones operacionales en la actividad máxima específica metanogénica del lodo y la capacidad de biodegradación del lodo mediante 8 reactores UASB a escala piloto con varios tiempos de retención hidráulica y con diferentes alimentaciones de carga orgánica [14]. Los resultados muestran que con TRH bajos, el inóculo microbiano tiene una mejor actividad [14].

El concepto del reactor UASB se diseñó inicialmente para tratar aguas con una alimentación de alta concentración de materia orgánica ($DQO > 2000 \text{ mg L}^{-1}$). Sin embargo existen varios estudios que aseguran que se puede aplicar eficientemente un reactor UASB para el tratamiento de aguas residuales menos concentradas [15]. La mayor preocupación al tratar aguas residuales con baja concentración de materia orgánica es la presencia de oxígeno disuelto que puede ser tóxico e inhibir la actividad microbiana. Kato et al, estudiaron el funcionamiento del reactor UASB con aguas residuales muy diluidas y observaron que los niveles de oxígeno disuelto en el afluente del agua residual no fueron lo suficientemente altos para generar toxicidad microbiana. Adicionalmente, en el consorcio microbiano metanogénico se encuentran bacterias facultativas consumidoras de oxígeno las cuales protegen las bacterias estrictamente anaeróbicas. Eficiencias de degradación mayores al 85% con un DQO en el

afluente mayor a 422 y 630 mg L⁻¹ se obtuvieron utilizando como sustrato etanol y suero de leche, respectivamente. [15].

Los reactores UASB han sido ampliamente aplicados a nivel mundial, es así que en el año 2001 se registró la existencia de 1215 reactores anaeróbicos industriales de “tasa alta” [16]. El 72% de estos reactores fueron diseñados en base al reactor UASB, operando con una carga orgánica de 10 g DQO L⁻¹ d⁻¹. Estos presentaron eficiencias de degradación de la materia orgánica del 85% [16]. La tecnología de los reactores UASB se aplica en el tratamiento de aguas residuales principalmente en la industria cervecera y de bebidas, la industria de fermentación y destilerías, la industria alimenticia y la industria del papel y pulpa. El instituto de investigación y tecnología industrial de Taiwan, ITRI (Industrial Technology Research Institute) ha instalado 25 reactores UASB desde 1988 hasta el 2006. Los reactores varían en capacidad, desde 80 m³ para el tratamiento de efluentes de procesos químicos hasta reactores de 2850 m³ para el tratamiento de AR provenientes de la producción de levadura. Todos los reactores instalados por el ITRI cuentan con eficiencias mayores al 65% de remoción de DQO [17].

Una gran ventaja del reactor UASB es la producción de biogás durante el proceso de biodigestión anaeróbica. Se denomina biogás a todo compuesto gaseoso producido por la digestión anaeróbica, aprox. 60% metano y 40% dióxido de carbono. La producción de este gas está directamente relacionada con la cantidad de materia orgánica estabilizada. Durante la biodigestión anaeróbica de 1 g DQO con 100% de eficiencia se produce 12.78 kJ de energía en forma de metano [9].

La crisis energética de los últimos años ha surgido a causa de las dificultades de abastecimiento, el aumento en los precios de los combustibles fósiles y los problemas medio

ambientales que estos causan [18]. Es por ello que el desarrollo de fuentes de energía renovables es cada vez más importante, siendo una de ellas la producción de biogás. El interés en la producción de metano a través del tratamiento anaeróbico de las aguas residuales cada vez es más atrayente. En los Estados Unidos existen más de 1000 plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) municipales con flujos mayores a los 5 millones de galones por día, de las cuales 203 aplican la digestión anaeróbica. De estas, aproximadamente 106 PTAR utilizan el biogás producido para generar electricidad y/o energía térmica [19]. En King County, Renton, Washington se aplicó una célula de combustible para la generación de energía eléctrica y térmica en situ mediante el biogás proveniente de la digestión anaeróbica en la PTAR en Renton. En los primeros tres meses del año 2005 la célula de combustible operó 1270 horas, produciendo 1.158 megavatio hora (MWh) y el biogás producido se utilizó para satisfacer el 15% de la energía requerida por la planta [20]. De manera parecida en la PTAR de Tucson Ina Road, Tucson, Arizona que procesa un promedio de 35 millones de galones de AR por día, cumple con sus requerimientos energéticos por medio de siete Waukesha turbinas/generadores alimentadas con gas natural y biogás [21]. Inicialmente en 1977 cuando se puso en marcha a la PTAR se trabajaba únicamente con gas natural. Desde que se produjo suficiente metano algunas turbinas trabajan únicamente con biogás, típicamente se operan dos turbinas 18 a 20 horas y una adicional 24 horas al día únicamente con gas producido en la biodigestión. De esta manera la PTAR produce el 30% del combustible necesario para su funcionamiento diario [21].

En la provincia Canadiense de Ontario una gran parte de las PTAR's aplican sistemas anaeróbicos para estabilización de la materia orgánica y se produce una gran cantidad de biogás [22]. La ciudad de Toronto procesa $1\,030\,000\text{ m}^3\text{día}^{-1}$ de aguas residuales lo cual

produce 76 000 m³día⁻¹ de biogás [22]. Este biogás es transformado en energía eléctrica mediante un proceso de absorción de un lecho de carbón activado para remover cualquier traza de H₂S del biogás, un reformado seco, un reformado con vapor y finalmente una celda de combustible de oxido sólido, generando 0.3 gigavatio hora (GWh). Este sistema se probó en tres PTAR en la provincia con resultados alentadores en cada una. La PTAR de Ravensview alcanzó una producción neta de energía eléctrica de 1.2 MWh, Humber 1.5 MWh y Ashbridges Bay 3.1 MWh. De esta manera se demostró que aunque la producción de biogás sea baja a moderada este es un recurso de energía renovable importante [22].

El objetivo del presente trabajo de investigación fue diseñar y poner en marcha un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos (reactor UASB) para el tratamiento de aguas residuales a escala de laboratorio. Mediante la caracterización previa del inóculo microbiano se determinó las condiciones microbianas óptimas de trabajo del reactor anaeróbico. Una vez en marcha el reactor UASB se lo estabilizó y se determinó la eficiencia del proceso a través del monitoreo periódico de la degradación de la materia orgánica (DQO), la producción de metano y el contenido de sólidos suspendidos.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1. *Inóculo microbiano*

Varios lodos y sedimentos fueron evaluados para determinar sus características físico-químicas y biológicas (Capítulo II). En base a estos resultados se determinó el inóculo microbiano más adecuado bajo condiciones anaeróbicas para utilizarlo como fuente de microorganismos en el reactor UASB. El lodo proveniente de un tanque de descarga de una planta de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Quito, registró la mayor actividad máxima específica metanogénica. Sin embargo, por inconvenientes de logística no fue posible adquirir la cantidad de lodo requerido para operar el bioreactor, por lo que se utilizaron sedimentos de una laguna artificial situada en el campus de la Universidad San Francisco de Quito, USFQ con una actividad metabólica aceptable. El lodo de la laguna USFQ se mantuvo refrigerado a 4°C

3.3.2. *Muestra de agua residual sintética*

La muestra de agua residual sintética alimentada al bioreactor estuvo compuesta de un medio basal mineral con ácidos grasos volátiles (AGV). La composición del medio basal mineral empleado fue (en mg L⁻¹): NH₄Cl (280); K₂HPO₄ (250); MgSO₄·7H₂O (100); CaCl₂·2H₂O (13.27); extracto de levadura (10) y Na₂CO₃ (3750) y 1 mL L⁻¹ de la solución de elementos traza, cuya composición fue (en mg·L⁻¹): H₃BO₃ (50), FeCl₂·4H₂O (2000), ZnCl₂ (50), MnCl₂·4H₂O (50), (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (50), AlCl₃·6H₂O (90), CoCl₂·6H₂O (2000), NiCl₂·6H₂O (50), CuCl₂·2H₂O (30), NaSeO₃·5H₂O (100), EDTA(1000), resazurina (200) y 36% HCl (1 mL·L⁻¹) [23]. La solución madre de AGV empleada consistía de 44 g DQO L⁻¹ de:

ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico con una relación molar de 1:1:1. El pH de la solución madre AGV se ajustó a 1.9 con HCl para mantener los ácidos en solución de forma no ionizada. La carga orgánica en el afluente varió entre 3.0 y 7.5 g DQO L⁻¹. El pH de la muestra sintética se ajustó a 7.1 – 7.3 con HCl o NaOH, de acuerdo a lo requerido.

3.3.3 Reactor UASB

El reactor UASB fue construido en vidrio por Saigón del Ecuador. El volumen total del reactor fue de 2 L, con un volumen de trabajo de 1.61 L y un diámetro interno de 8.5 cm. El reactor UASB fue empaquetado con 20% (v/v) de sedimentos de la laguna artificial USFQ previamente tamizados y lavados.. El afluente se alimentó al reactor a través de una bomba peristáltica Peri-Star Pro 4H (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) con un flujo de 0.112 L d⁻¹ y un TRH de 5 días. La carga orgánica de la muestra sintética de agua residual varió entre 3.0 y 7.5 g DQO de ácidos grasos volátiles (AGV) L⁻¹. El efluente tratado (salida lateral del reactor en la parte superior) fue colectado a través de una manguera (sonda médica, 0.5 cm) en un tanque de recolección. El reactor fue colocado en una incubadora construida en casa a $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y el afluente se mantuvo refrigerado a 4°C.

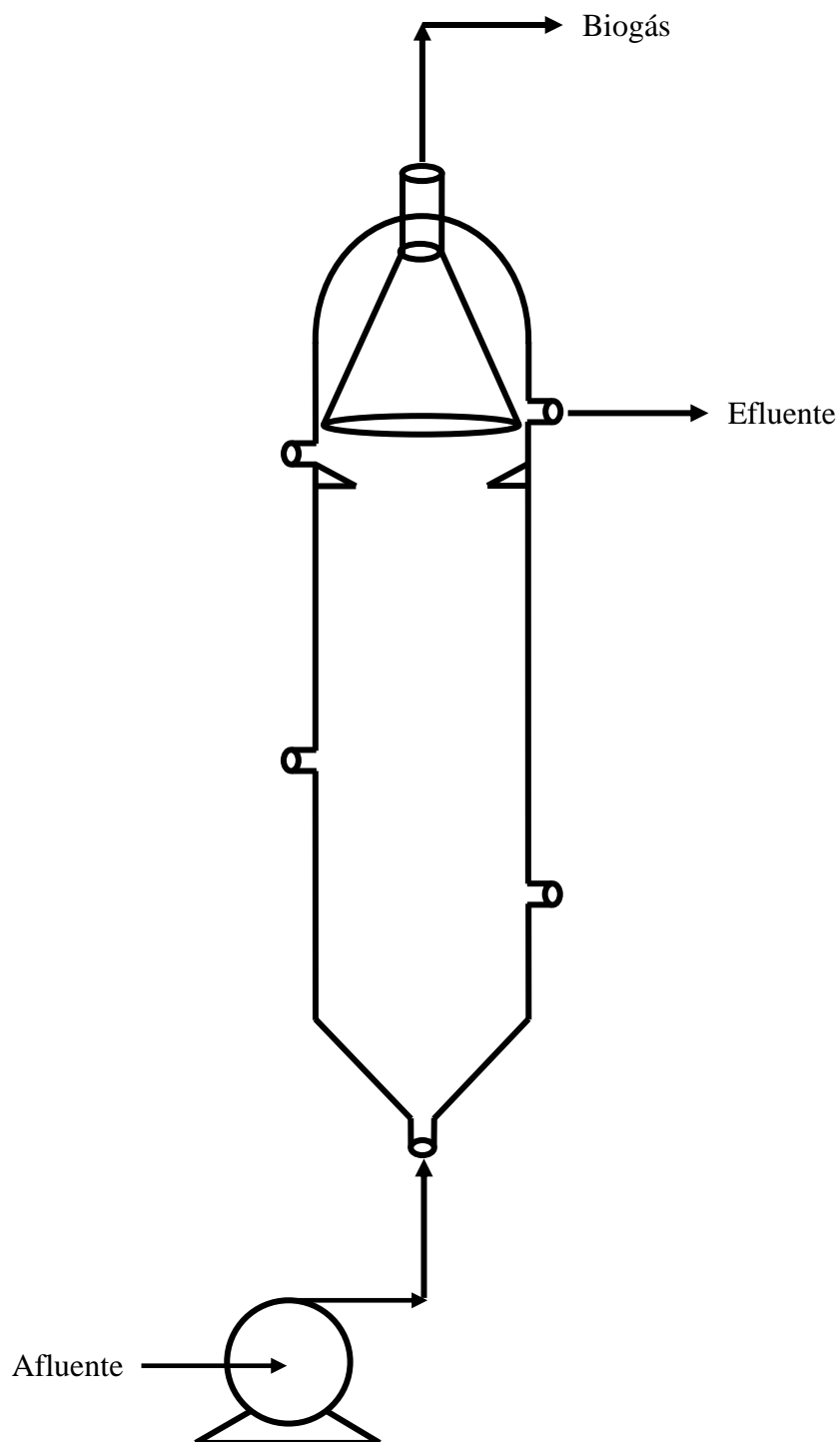


Figura 3.2: Esquema de reactor UASB a escala de laboratorio, conectado mediante mangueras a una bomba peristáltica que alimenta la muestra de agua residual sintética.

3.3.4. Métodos Analíticos

Varios parámetros fueron monitoreados para evaluar el funcionamiento del reactor UASB para el tratamiento de aguas residuales de acuerdo a protocolos descritos en Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales [24] y en el Capítulo II. Los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determinaron mediante el método de filtros una vez por semana. Brevemente, 20 mL de la muestra del efluente se filtró al vacío empleando filtros de microfibras de vidrio 934-AH con diámetro de 90 mm (Whatman, Piscataway, NJ, USA). El filtro húmedo se sometió a un proceso de evaporación en un horno a 105°C durante toda la noche y posteriormente se colocó el filtro en el horno mufla a 550°C por 3 horas. El peso del filtro seco, el filtro húmedo, el filtro después del proceso de evaporación y el filtro con cenizas se registraron para determinar la cantidad de sólidos suspendidos presentes en la muestra.

La medición de la demanda química de oxígeno soluble se realizó mediante un método colorimétrico dos veces por semana descrito en Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales [24] y el Capítulo II. Las muestras por triplicado del afluente y del efluente se centrifugaron durante 15 minutos y de ser necesario se diluyeron. Posteriormente se empleó una solución de digestión de dicromato de potasio con ácido sulfúrico concentrado, y una solución de ácido sulfúrico concentrado con nitrato de plata. Esta mezcla se sometió a un proceso de digestión a 150°C por dos horas y finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA). La demanda química de oxígeno de las muestras analizadas se determinó en base a una curva de calibración empleando estándares de KHP. Los estándares

de KHP equivalentes a 50, 100, 250, 500 y 750 mg O₂ L⁻¹ fueron preparados a partir de una solución madre de KHP con una concentración de 1000 mg O₂ L⁻¹.

El flujo de alimentación y la producción de metano se monitorearon todos los días. El flujo se monitoreó mediante el registro del peso el recipiente colector del efluente vacío y el peso del recipiente a lo largo del tiempo. Mientras que el metano producido se cuantificó por el método de desplazamiento de líquido utilizando botellas de suero de acuerdo al protocolo descrito en el Capítulo II [25]. El bioreactor, se conectó mediante una manguera a una botella de suero suministrada con la solución de NaOH previamente sellada con un tapón de caucho y una tapa de aluminio. El dióxido de carbono (CO₂) del biogás es absorbido en la solución de NaOH, mientras que el metano generado desplaza a dicha solución y de esta manera se puede cuantificar la cantidad de metano producido.

3.3.5. *Reactivos*

Nitrato de plata ($\geq 99\%$) se obtuvo de Reactivos H.V.O (Quito, Pichincha, Ecuador). Ácido sulfúrico (95-97%) e hidróxido de sodio ($\geq 99\%$) se adquirieron de MERCK (Darmstadt, Alemania). Ácido Clorhídrico (37.2%) y ácido acético (99.5%) se obtuvieron de Fisher Scientific (Fan Lan, New Jersey, USA). Ácido butírico (99%), ácido propiónico (99.5%) y dicromato de potasio (99.4%) se obtuvieron de J.T. Baker Inc. (Phillipsburg, New Jersey, USA).

3.4 Resultados y Discusión

En el presente trabajo de investigación se puso en marcha y estabilizó un bioreactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos UASB en modo de operación continuo para el tratamiento biológico de aguas residuales a escala laboratorio.

3.4.1 Caracterización del inóculo microbiano empleado en el reactor UASB

El bioreactor fue empacado con sedimentos provenientes de una laguna artificial de la USFQ. La caracterización de dichos sedimentos se realizó de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. En la Tabla 3.3 se presentan las características físico-químicas y biológicas de los sedimentos de la laguna artificial.

Tabla 3.2: Características físico-químicas y biológicas de los sedimentos de la laguna USFQ.

Parámetro	Valor	Unidades
Sólidos suspendidos totales (SST)	12.65	g L^{-1}
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	7.23	g L^{-1}
Contenido de Cenizas	5.42	g L^{-1}
Demanda Química de Oxígeno	141.75	mgDQO L^{-1}
Actividad máxima específica metanogénica	0.24	$\text{g DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$

Las propiedades físico-químicas y biológicas indican que los sedimentos de la laguna artificial pueden ser empleados como inóculo microbiano en el reactor UASB. La relación entre los sólidos suspendidos volátiles y los sólidos suspendidos totales es del 57%, lo cual está dentro de los valores sugeridos para inóculos microbianos en la literatura [5]. La demanda química de oxígeno con un valor de $141.8 \text{ mg DOQ L}^{-1}$ también se encuentra dentro de los límites

recomendados para inóculos microbianos [5]. Finalmente, la actividad máxima específica metanogénica para buenos inóculos anaeróbicos provenientes de sedimentos debe estar en 0.1 y 0.5 g DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹, y la actividad metabólica de estos sedimentos está dentro de dicho rango. En base a estos resultados se puede concluir que los sedimentos de la laguna artificial de la USFQ son inóculos microbianos saludables y aptos para utilizarse en procesos biológicos de degradación anaeróbica.

3.4.2 Remoción de la Demanda Química de Oxígeno en el reactor UASB

La eficiencia de degradación del bioreactor UASB fue evaluada con una muestra sintética de agua residual que se preparó de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. Varias cargas de materia orgánica con una variación en la concentración de AGV de 7.5, 3.5, 4.5 y 3 g DQO L⁻¹ fueron alimentadas de manera continua al reactor UASB. La eficiencia de degradación del reactor UASB se evaluó mediante el porcentaje de remoción de la demanda química de oxígeno (DQO). La Figura 3.3 presenta el porcentaje de degradación del reactor UASB a través del tiempo. Inicialmente el reactor UASB se alimentó con 7.5 g DQO AGV L⁻¹. Durante los 10 primeros días de operación se alcanzó un porcentaje de degradación máximo del 80%. Sin embargo al pasar los días la capacidad de degradación se redujo hasta un 34.28%, lo cual indica una posible inhibición de la actividad bacteriana por exceso de sustrato.

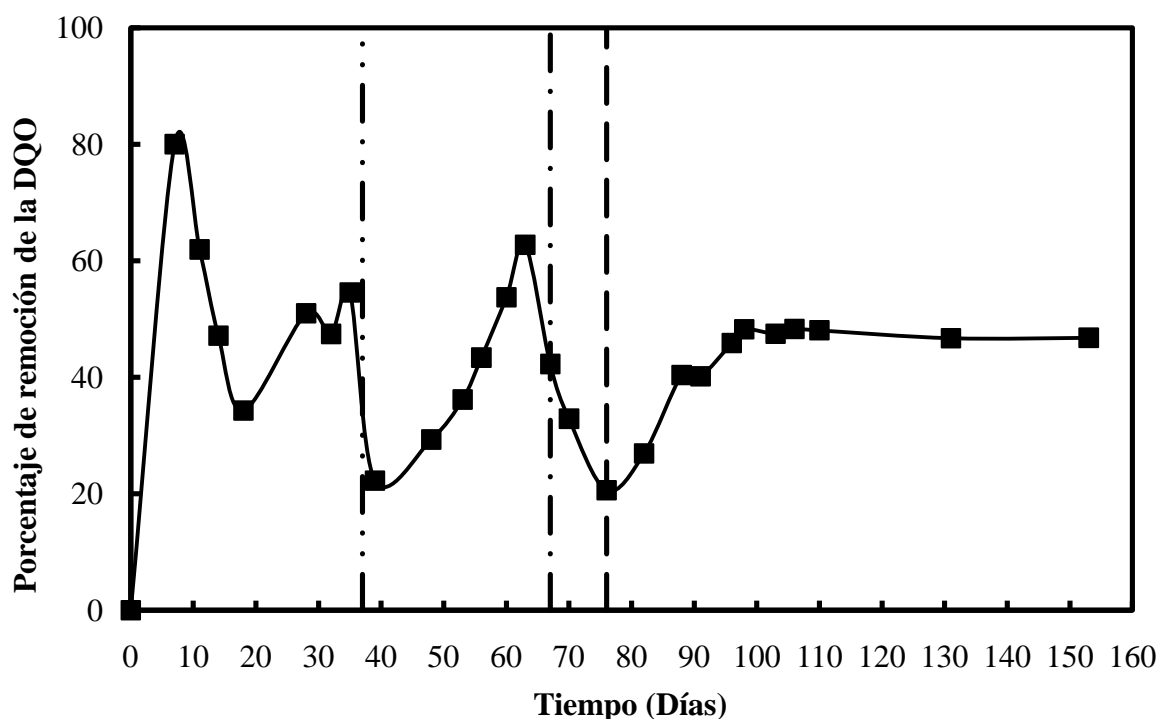


Figura 3.3: Porcentaje de remoción de la materia orgánica dentro de reactor UASB en función de la medición de la DQO del afluente y del efluente a través del tiempo. Durante los primeros 37 días se alimentaron $7.5 \text{ g DQO AGV L}^{-1}$, los próximos 30 días se alimentaron $3.5 \text{ g DQO AGV L}^{-1}$, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L^{-1} y finalmente a partir del día 76 se alimentaron $3 \text{ g DQO AGV L}^{-1}$.

Con el objetivo de evaluar el efecto de la concentración del sustrato y la posible inhibición por sustrato en el reactor UASB, en el día 37 se redujo la cantidad de materia orgánica alimentada a 3.5 g DQO AGV L⁻¹. Durante los 10 días siguientes al cambio en la alimentación, el porcentaje de remoción aumentó paulatinamente alcanzando porcentajes de degradación de aproximadamente 60% después de 67 días de operación. Estos resultados sugieren que si se reduce la concentración del sustrato, es decir si la concentración de ácidos grasos volátiles disminuye a 3.5 g DQO L⁻¹, disminuye la inhibición microbiana ya que la concentración del sustrato no se encuentra en exceso y las bacterias anaeróbicas degradadoras de ácidos volátiles grasos son capaces de degradarlos alcanzando valores cercanos a sus velocidades máximas de degradación, 60% comparado con 80%. .Adicionalmente, estos resultados muestran que las bacterias anaeróbicas fueron capaces de recuperar su actividad microbiana al reducir la alimentación de la carga orgánica incluso después de haber sido sometidas a una concentración elevada y tóxica de sustrato.

En búsqueda de la carga orgánica de alimentación optima de alimentación al reactor UASB y de estudiar el efecto de la concentración de sustrato en más detalle, se incrementó la alimentación a 4.5 g DQO AGV L⁻¹ en el día 67. Inmediatamente después de este cambio se observó una disminución en el porcentaje de degradación. Después de 9 días de operación bajo estas nuevas condiciones de alimentación, la remoción de la DQO bajo hasta el 20.58%. Estos resultados demuestran una vez más que las bacterias metanogénicas son muy sensibles a cambios de concentración de la materia orgánica alimentada. Finalmente en el día 76 se disminuyó la alimentación a 3 g DQO AGV L⁻¹, paulatinamente se observó un aumento en el porcentaje de remoción, desde el 20.58% hasta una remoción máxima de 48.28% en el día 110 y se mantuvo durante los próximos 40 días de operación y en este periodo de tiempo fue que el

reactor UASB finalmente se estabilizó. En base a estos resultados se puede establecer que una carga orgánica (DQO) mayor a 3 g DQO AGV L⁻¹ inhibe la actividad metabólica de las bacterias metanogénicas presentes en los sedimentos de la laguna artificial causando una disminución significativa en su capacidad de degradación microbiana.

Sin embargo, es importante anotar que una remoción del 48.28% para un reactor UASB es bastante aceptable, especialmente considerando que está inoculado con sedimentos de una laguna y no con lodos cultivados en una PTAR. El porcentaje de remoción de la DQO determinado es comparable con datos literarios, en un estudio realizado por LaMotta y colaboradores se estableció una eficiencia máxima del 34% de remoción de materia orgánica en un reactor UASB alimentado con AR municipal [26]. De manera similar en un estudio realizado por Cao sobre la degradación anaeróbica en un sistema a escala de laboratorio de un reactor UASB para el tratamiento de AR municipales en climas calientes seguido por un proceso de lodos activados se registró un 42% de remoción de la DQO [27].

Los resultados de la inhibición microbiana por exceso de sustrato de esta investigación concuerdan con datos de la literatura. La acumulación de ácidos grasos volátiles tales como ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico conlleva a la inhibición del crecimiento de varias especies microbianas en diferentes magnitudes. Mediante bioensayos batch Hajamis y Ranade monitorearon el crecimiento de bacterias metanogénicas a varias concentraciones de ácido butírico, valérico y caproico en formas *n*- y *iso*- [28]. Inhibiciones de las bacterias metanogénicas se observaron con una concentración de 5 g/l de AGV *n*- y *iso*. La inhibición causada por el ácido butírico fue mayor en comparación a la inhibición observada por el ácido valérico y caproico, y adicionalmente fue proporcional a la concentración de AGV agregada [28]. De manera similar, Dogan *et al.* observaron una inhibición por sustrato, en un reactor

UASB empaquetado con lodos anaeróbicos provenientes de una planta de destilación de alcohol a escala real con una alimentación de 4 000 mg L⁻¹ de acetato, 3 500 mg L⁻¹ de propionato y 4 600 mg L⁻¹ de butirato [29].

Adicionalmente, la determinación de la eficiencia de remoción del reactor UASB empleado en este estudio permite establecer el tipo de respuesta del inóculo microbiano a la inhibición por elevadas concentraciones de AGV. Según Rozzi y Remigi se puede observar dos respuestas a la inhibición por sustrato, una de corto plazo y la otra de largo plazo. En la respuesta de corto plazo se logra establecer una actividad microbiana constante pero menor a la actividad máxima específica del inóculo bacteriano y la respuesta a largo plazo se da mediante una fase de adaptación seguida por la aclimatación de los microorganismos a las condiciones de operación. Si el inóculo microbiano logra adaptarse a la concentración de sustrato elevado se puede alcanzar la máxima eficiencia de remoción de DQO, sin embargo esto requiere de un periodo muy largo de estabilización [30]. La figura 3.3 muestra claramente que en el reactor UASB empaquetado con sedimentos de la laguna artificial USFQ se obtuvo una respuesta de corto plazo a la inhibición por sustrato. Después de evaluar varias concentraciones de materia orgánica se logró establecer una actividad microbiana constante de aproximadamente 48% de remoción de DQO la cual es menor a la remoción máxima de DQO previamente observada. Probablemente, la inhibición de sustrato y la respuesta de adaptación a la concentración elevada de AGV fue la razón por lo cual no se alcanzó la máxima eficiencia de remoción de DQO.

Otro parámetro importante que se monitoreó a diario fue el pH del afluente y efluente. En la figura 3.4 se puede observar que el pH del afluente varió de manera pronunciada entre 8.8 y 9.4 durante los primeros 67 días de operación del reactor UASB. Durante el periodo

comprendido entre los días 67 y 76, la variación de pH fue moderada. A partir del día 76 la variación del pH fue pequeña y finalmente a partir del día 110 el pH se estabilizó manteniéndose entre 9.1 y 9.3. Con respecto al pH del efluente se puede observar que al igual que el pH del afluente, los cambios de alimentación tuvieron un efecto significativo. Se registró una variación grande de cuatro unidades de pH durante los primeros 67 días de operación. Posteriormente se puede observar que el pH del efluente disminuye hasta el día 110 a un valor de 8.4 y se estabiliza en este valor. Los periodos de variación pronunciada, moderada y estabilización del pH del afluente y del efluente coinciden con las variaciones en la carga orgánica alimentada al reactor UASB demostrando que estas variaciones generan perturbaciones en la actividad microbianas y que se pueden ver reflejadas en los cambios de pH del sistema.

El departamento de control de contaminación acuática en Holanda encontró que el pH es uno de los factores más importantes en la actividad microbiana metanogénica ya que los ácidos volátiles grasos no disociados son muy tóxicos para las bacterias metanogénicas consumidoras de hidrógeno [31]. Los valores de pKa de los AGV aplicados en esta investigación están en un rango de 4.76 a 4.87 [32]. El pH del afluente y efluente del reactor UASB debe ser mayor a 7 para que se promueva la ionización de los ácidos así y evitar la toxicidad de las especies no ionizadas. En la figura 3.4 se puede observar que a lo largo del funcionamiento del reactor el pH se mantuvo entre 8.4 y 9.5, estabilizándose en 9.2 y 8.4, pH afluente y pH efluente, respectivamente.

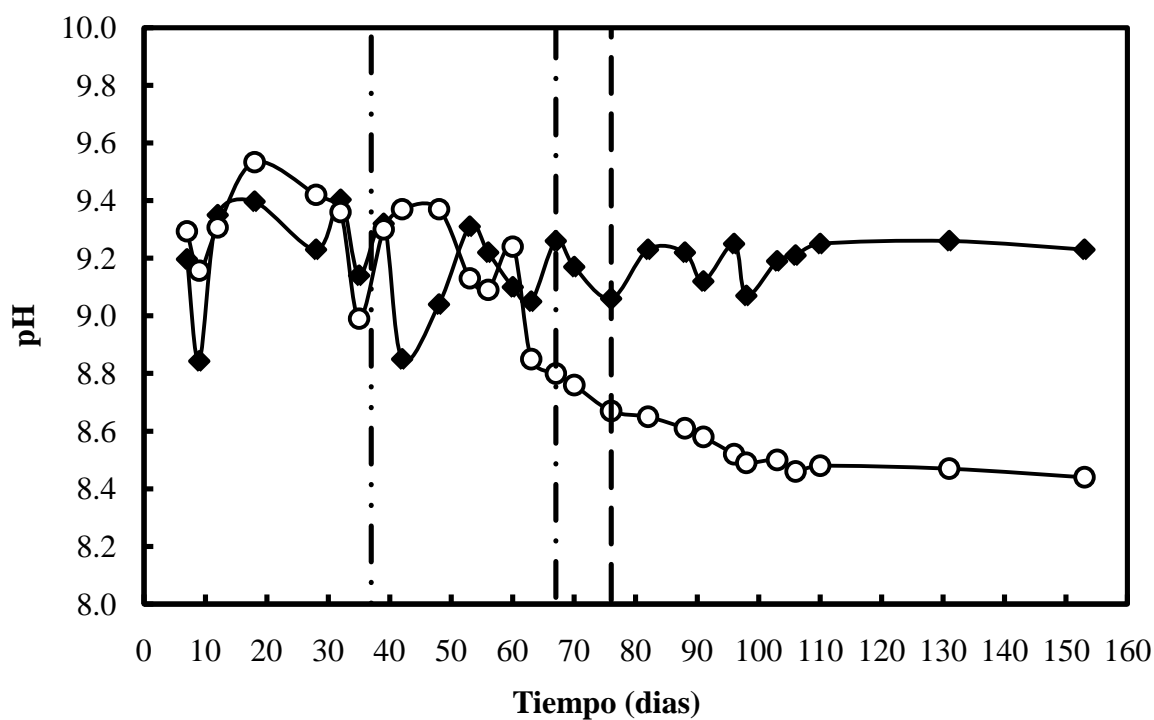


Figura 3.4: pH de afluente y efluente a lo largo del funcionamiento de reactor UASB.

Leyenda: (◆) Afluente, (○) Efluente. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹.

Conjuntamente, se monitoreó a diario el flujo de alimentación el cual determina la carga orgánica alimentada al reactor. Una alimentación irregular resulta en una carga orgánica inconsistente. La figura 3.5 muestra un periodo de estabilización, con varios picos pronunciados, en el día 12 se observa un flujo elevado de 0.32 mLmin^{-1} , que corresponde a un error humano que perturbó el flujo alimentado por la bomba, y en el día 18, con un flujo muy bajo que corresponde a un inconveniente con la manguera de alimentación. La inestabilidad en el flujo de alimentación refleja la fluctuación en los primeros 30 días de operación en todos los otros parámetros de control; el porcentaje de remoción de la materia orgánica, variaciones en el pH, la producción de metano y el contenido de sólidos. Finalmente, el flujo se estabiliza en los 0.22 mL min^{-1} a partir del día 45. El mantenimiento y limpieza de las mangueras de alimentación se realizó de manera periódica para asegurar un flujo de alimentación constante a través del tiempo.

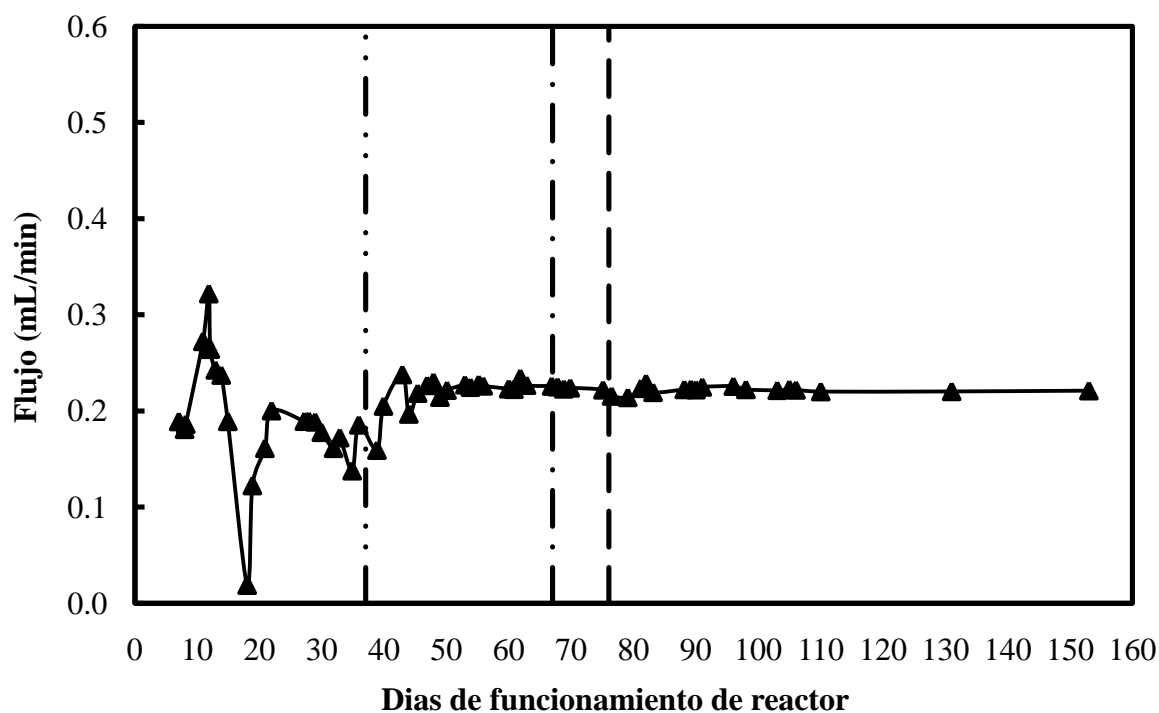


Figura 3.5: Registro de flujo de alimentación por bomba peristáltica (Peri-Star Pro 4H) a lo largo del funcionamiento de reactor UASB. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹.

El contenido de sólidos suspendidos también es un parámetro importante a monitorear ya que es una medida indirecta de la biomasa producida, uno de los principales productos de la digestión anaeróbica. Los SST, SSV y las cenizas del efluente fueron monitoreados semanalmente y están representados en la figura 3.6. Durante los primeros 37 días de operación se observó que la cantidad de SST, SSV y cenizas en el efluente fue de 0.85, 0.62 y 0.2 g L⁻¹, respectivamente. Estas concentraciones fueron disminuyendo conforme el reactor seguía operando, y en el día 37 fueron 0.31, 0.30 y 0.01 g L⁻¹, respectivamente. El hecho de que el contenido de SST y SSV haya disminuido y que sea el mismo en el día 37 sugiere que todos los sólidos presentes en suspensión en el reactor UASB corresponden a la biomasa presente. La sedimentación completa del lodo se vio reflejada al alcanzar un valor de cenizas 0.01 g L⁻¹. Por lo tanto, estas observaciones se pueden atribuir a que el inóculo microbiano introducido al reactor sigue el proceso natural de sedimentación que ocurre por la acción de la gravedad y conforme va pasando el tiempo los sólidos inertes van disminuyendo hasta alcanzar una sedimentación completa y los sólidos suspensión representan la biomasa. El diseño del reactor UASB, descrito por Lettinga, promueve el asentamiento de los sólidos. Una vez establecido el manto, este tiene la capacidad de soportar las fuerzas mezcladoras del proceso [13].

Después de la estabilización del contenido de SST y SSV en el día 37, se puede observar que estos parámetros aumentan progresivamente a un valor cercano a los 0.35 g L⁻¹. Este aumento está directamente relacionado con una buena actividad microbiana, la cual corresponde al aumento paulatino del porcentaje de remoción de la DQO a una alimentación de 3.5 g DQO AGV L⁻¹ entre los días 37 y 67. Posterior al cambio en la alimentación a 4.5 g DQO AGV L⁻¹ se evidenció una caída en el contenido de sólidos, específicamente en el día 82. El contenido

de SST y SSV aumentó de manera pronunciada a partir de que se disminuyó la concentración de carga orgánica a 3 g DQO AGV L⁻¹. Finalmente, el contenido de SST y SSV se estabilizó al igual que el resto de parámetros en el día 110 en 0.82 g L⁻¹.

En base a estos resultados es evidente que el crecimiento microbiano representado por el contenido de sólidos suspendidos está directamente relacionado con los porcentajes de degradación de la materia orgánica, mientras existe degradación microbiana existe crecimiento microbiano.

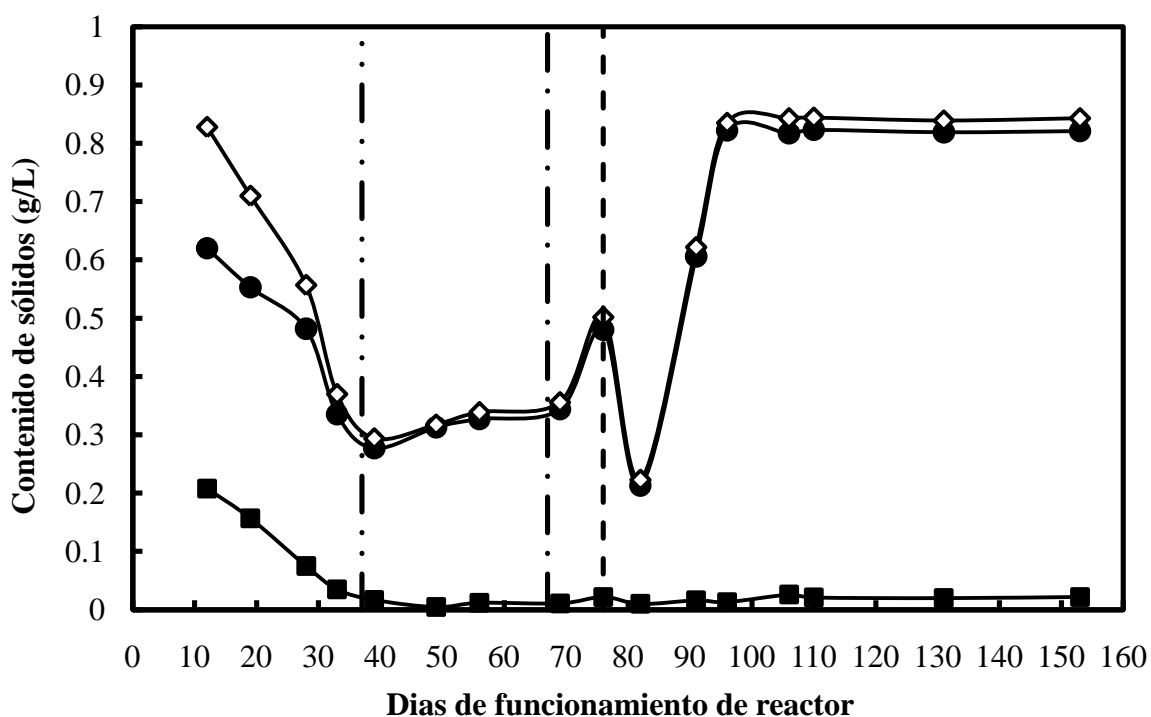


Figura 3.6: Contenido de sólidos suspendidos totales, volátiles y cenizas en efluente a lo largo del funcionamiento de reactor UASB. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹. (◇) Sólidos suspendidos totales, (●) Sólidos suspendidos volátiles, (■) Cenizas

3.4.3 Producción de metano en el reactor UASB

En la figura 3.7, se presenta la producción de metano acumulada a través del tiempo en el reactor UASB durante el tratamiento de una muestra sintética de agua residual. Los primeros 18 días de funcionamiento muestran una baja producción de metano, esto corresponde al periodo de aclimatación del inóculo microbiano a las condiciones de operación. Posteriormente se observó un aumento gradual en la producción de metano, en el día 20 se evidenció un aumento pronunciado en las moles de metano producidas durante los primeros 37 días de operación se obtuvo una producción de metano acumulada de 0.037 moles. Tras 76 días de funcionamiento empleando varias concentraciones de materia orgánica como alimentación, el reactor UASB produjo 0.0071 moles de metano acumuladas. A partir del día 76 el reactor fue operado con una carga orgánica constante de alimentación de 3 g DQO L⁻¹. En los 26 días posteriores a este cambio no se observó un aumento en la producción de metano, esto se debe a que las bacterias metanogénicas fueron expuestas a elevadas concentraciones de carga orgánica que inhibieron su actividad metabólica, por lo tanto requieren un periodo de aclimatación y recuperación. Finalmente, después de 153 días de funcionamiento se produjeron 0.011 moles de metano acumuladas.

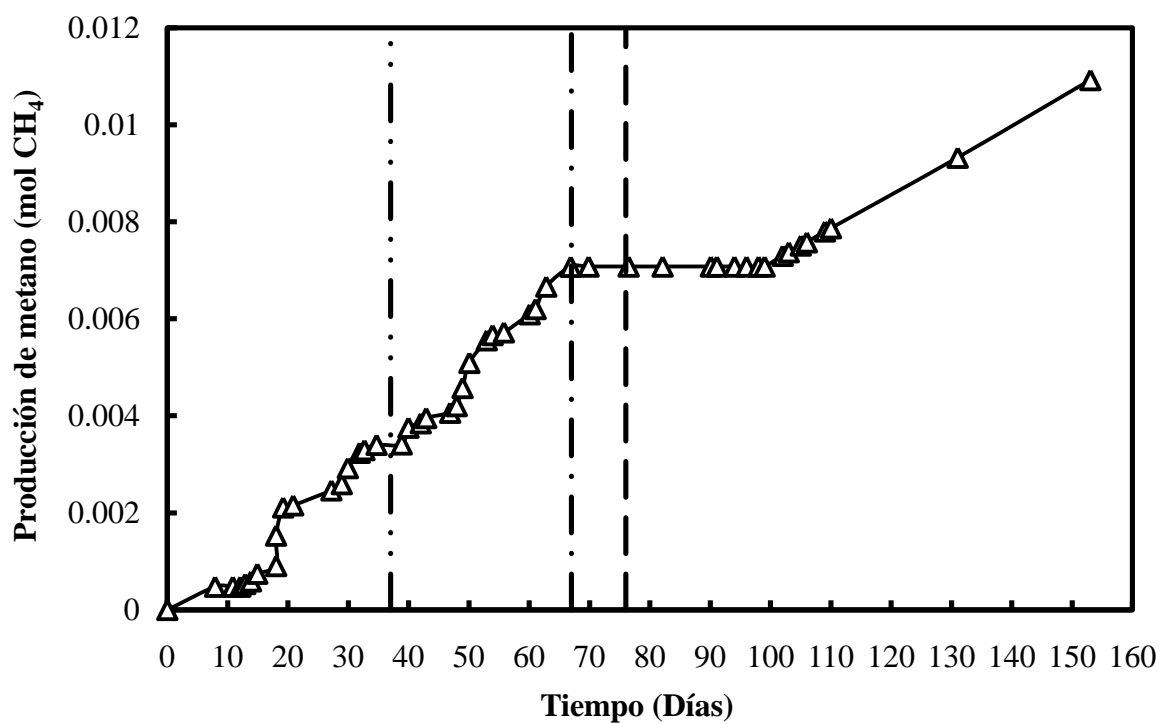


Figura 3.7: Producción de metano por la biodegradación anaeróbica dentro del reactor UASB. Durante los primeros 37 días se alimentaron 7.5 g DQO AGV L⁻¹, los próximos 30 días se alimentaron 3.5 g DQO AGV L⁻¹, posteriormente en el día 67 se suministró 4.5 g DQO L⁻¹ y finalmente a partir del día 76 se alimentaron 3 g DQO AGV L⁻¹. Leyenda: (◆) Afluente, (○) Efluente

Una vez establecida la carga orgánica adecuada de alimentación, el reactor UASB empacado con los sedimentos de la laguna artificial se estabilizó en el día 110 y a partir de estos días se emplearon los datos para calcular la tasa de producción de metano. Los microorganismos presentes en el reactor UASB registraron una tasa de producción acumulada de metano de $0.0028 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Estudios de la literatura reportan tasas de producción de metano superiores a las obtenidas en esta investigación. Por ejemplo, en un estudio realizado en el Instituto de Tecnología de Benha High, Egipto, se alcanzó una tasa de producción de metano de $0.05 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ durante el tratamiento de aguas residuales domésticas en un reactor UASB empacado con lodos provenientes de un digestor anaeróbico secundario [33]. Si bien es cierto que la tasa de producción de metano obtenida es un orden de magnitud inferior que aquella reportada en la literatura, es importante establecer que los sedimentos empleados en este estudio provienen de una laguna artificial que no está sometida a ningún proceso biológico de tratamiento de aguas. Mientras que los lodos empleados comúnmente en la literatura provienen de plantas de tratamiento de aguas residuales en los cuales no solo existe una elevada concentración de biomasa; sino más importante aún, el consorcio microbiano ha sido previamente expuesto y sometido al tratamiento de este tipo de efluentes. Por lo tanto, los lodos provenientes de procesos biológicos son mucho más eficientes y robustos para ser empleados como inóculos microbianos. Adicionalmente, la inhibición por sustrato a la que las bacterias fueron expuestas desde la puesta en marcha del reactor UASB es un factor importante que afectó sin lugar a dudas la actividad metabólica de las bacterias metanogénicas y es muy probable que la tasa de producción de metano se haya reducido significativamente. Finalmente, a pesar de que la tasa de producción de metano registrada fue baja, la eficiencia de degradación de la carga orgánica

fue del 48% lo cual está dentro de los valores obtenidos para reactor UASB operando exitosamente.

3.5 Conclusiones

El reactor UASB empacado con sedimentos provenientes de la laguna artificial USFQ fue puesto en marcha exitosamente para el tratamiento de agua residual sintética a escala laboratorio. Las bacterias metanogénicas demostraron ser altamente sensibles a concentraciones elevadas de sustrato alimentadas al reactor UASB. Es así que concentraciones de ácidos grasos volátiles mayores 3 g DQO L⁻¹ ocasionaron la inhibición de la actividad microbiana de los microorganismos presentes en los sedimentos de la laguna artificial de la USFQ. Sin embargo, las bacterias anaeróbicas fueron capaces de recuperar su actividad microbiana al reducir la alimentación de la carga orgánica incluso después de haber sido sometidas a una concentraciones elevadas de sustrato. La eficiencia de degradación de la materia orgánica en el reactor UASB se estableció en base a un monitoreo periódico de la variación de la carga orgánica, la generación de metano y el crecimiento microbiano. Finalmente, la información generada en esta investigación es muy valiosa ya que en base a estos resultados se puede implementar un sistema de tratamiento anaeróbico de aguas residuales a escala piloto con bajos costos de mantenimiento y operación

3.6 Referencias Bibliográficas

1. Field, J.A., *High Rate Anaerobic Wastewater Treatment*. University of Arizona. 2002.
2. Ramalho, R., *Tratamiento de Aguas Residuales*. 2nd ed. 1993, Barcelona: Reverte S.A.
3. Pflanz, M., *World Water Day: Dirty water kills more people than violence, says UN*. The Christian Science Monitor. 2010, Lamu, Kenya.
4. Winkler, M., *Tratamiento Biológico de Aguas Residuales*, ed. L. S.A. 1986, Mexico.
5. Metcalf, E., *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. 2003, New York: Mc Graw-Hill.
6. Valsaraj, K.T., *Elements of environmental engineering: thermodynamics and kinetics*. 2000, Boca Raton: CRC Press.
7. Sawayama, S., et al., *Characterization of Lighted Upflow Anaerobic Sludge Blanket (LUASB) Method under Sulfate-Rich Conditions*. Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol. 91. 2001. 195-201.
8. Lettinga, G. and A.S. VanHaandel, *Renewable Energy: Sources for Fuels and Electricity*. Anaerobic Digestion for Energy Production and Environmental Protection. 1993, Washington: Island Press.
9. Romero-Rojas, J.A., *Tratamiento de aguas residuales: teoría y principios de diseño*, ed. E.E.C.d. Ingeniería. 1999, Santafé de Bogotá.
10. Vesilind, A., *Wastewater Treatment Plant Design*, ed. W.E. Federation. 2003, Alexandria.
11. Doble, M. and A. Kumar, *Biotreatment of Industrial Effluents*. 2005, Oxford: Elsevier.
12. Makni, H., et al., *The anaerobic treatment of sewage and granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor*. Environmental Technology. Vol. 27. 2006. 1031-1036.
13. Lettinga, G., et al., *Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment*. Biotechnology and Bioengineering. Vol. 22. 1980. 699-734.

14. Leitão, R.C., et al., *The effect of operational conditions on the sludge specific methanogenic activity and sludge biodegradability*. Water Science & Technology. Vol. 59. 2009. 1847-1853.
15. Kato, M., et al., *Treatment of Low Strength Soluble Wastewaters in UASB reactor*. Journal of fermentation and bioengineering. Vol. 77. 1994. 679-686.
16. Franklin, R.J., *Full scale experience with anaerobic treatment of industrial wastewater*. Water Science. Vol. 44. 2001. 1-6.
17. Depatment, P.A.T., *Modified Upflow Anaerobic Sludge Bed UASB Technology*. Environmental Technology Buisness Forum. 2003.
18. Pickering, K.T. and L.A. Owen, *An introduction to global environmental issues*. 1997, London: Routledge.
19. ERG, *Opportunities for and Benefits of Combined Heat and Power at Wastewaer Treatment Facilities*. 2007: U.S. Environmental Protection Agency Combined Heat and Power Partnership.
20. Bloomquist, G., *Case Study: King County Souh Treatment Plant Renton, Washington*. 2006, Combined Heat and Power EPA.
21. *Maintenance Helps Million Hour Engines Thrive at Tucson Wastewater Cogeneration Plant*. Waukesha Maintainer. Vol. 24. 2003.
22. Wheeldon, I., et al., *Utilization of biogas generated from Ontario wastewater treatment plants in solid oxide fuel cell systems: A process modeling study*. International Journal of Green Energy. Vol. 4. 2007. 221-231.
23. Ochoa-Herrera, V., et al., *Toxicity of fluoride to microorganisms in biological wastewater treatment systems*. Water Research. Vol. 43. 2008. 3177-3186.
24. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20 th ed, ed. L.S. Clesceri, A.E. Greenberg, and A.D. Eaton. 1998, Washington D C: American Public Health Association.
25. Field, J.A., *Parameters Measurements* Wageningen Agricultural University. 1987.
26. LaMotta, E., et al., *Combined Anaerobic/Aerobic Secondary Municipal Wastewater Treatment: Pilot-Plant Demonstration of the UASB/Aerobic Solids Contact System*. Journal of Environmental Engineering. Vol. 133. 2007. 397-403.

27. Cao, Y.S. and C.M. Ang, *Coupled UASB-activated sludge process for COD and nitrogen removals in municipal sewage treatment in warm climate*. Water Science & Technology. Vol. 60. 2009. 2829-2839.
28. Hajarnis, S.R. and D.R. Ranade, *Inhibition of methanogens by n- and iso-volatile fatty acids*. World Journal of Microbiology & Biotechnology. Vol. 10. 1994. 350-351.
29. Dogan, T., et al., *Inhibition of volatile fatty acid production in granular sludge from a UASB reactor*. Journal of Environmental Science and Health, Part A. Vol. 40. 2005. 633-644.
30. Rozzi, A. and E. Remigi, *Methods of assessing microbial activity and inhibition under anaerobic conditions: a literature review*. Environmental Science and Bio/Technology. Vol. 3. 2004. 93-115.
31. Koster, I.W., *Characteristics of the pH-influenced adaptation of methanogenic sludge to ammonium toxicity*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology. Vol. 36. 2007. 445-455.
32. Lide, D.R., *Handbook of chemistry and physics*. 2004, Boca Raton: CRC Press.
33. Elmitwalli, T., et al., *Grey water treatment in UASB reactor at ambient temperature*. Water Science & Technology. Vol. 55. 2007. 173-180.